



Hinc patriam sustinet

**Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa**

**Efeito da encapsulação
na actividade do parasitóide de cochonilhas-algodão
Anagyrus sp. nov. próx. *pseudococci* (Girault)**

Ana Margarida Pedro Passarinho

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientador: Doutor José Carlos Franco Santos Silva

Co-Orientador: Doutora Elsa Maria Borges da Silva

Júri:

Presidente: Doutora Maria Helena da Costa Ferreira Correia de Oliveira, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutor José Carlos Franco Santos Silva, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa
Doutora Elisabete Tavares Lacerda de Figueiredo Oliveira, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa
Doutora Elsa Maria Borges da Silva, Bolseira de Pós-Doutoramento da Fundação para a Ciência e Tecnologia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2009

Agradecimentos

A realização deste trabalho só foi possível graças à colaboração de inúmeras pessoas, às quais gostaria de exprimir algumas palavras de sincero agradecimento.

Ao meu orientador, Professor José Carlos Franco, quero agradecer a atenção dispensada e as suas palavras de incentivo, assim como a orientação científica e importante contributo no planeamento deste trabalho e na discussão dos resultados.

À minha co-orientadora, Dra. Elsa Borges da Silva, sem a qual não conseguiria ter realizado este trabalho, por todos os conhecimentos transmitidos, pela orientação do trabalho laboratorial, pela cedência de material bibliográfico e, principalmente, pela sua amizade.

Ao Sr. Cariano agradeço as palavras de incentivo e todo o apoio prestado ao longo da realização deste trabalho.

À Lisa por toda a ajuda prestada durante o decorrer dos ensaios e pela sua simpatia e alegria.

Ao Eng. Mário Oliveira, da empresa Europrotea, por ter tornado possível a realização dos ensaios em proteaceas.

Ao Departamento de Protecção de Plantas e de Fitoecologia (DPPF-ISA) por ter permitido a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Biologia e Engenharia Biológica (DBEB-ISA) e ao Departamento de Entomologia da Estação Agronómica Nacional por terem cedido as instalações onde decorreram parte dos ensaios realizados.

Aos meus colegas e amigos pelas palavras de encorajamento e pelas muitas alegrias partilhadas ao longo dos últimos anos.

Ao Luís por estar ao meu lado e me apoiar nos momentos de desânimo.

Ao Telmo pela total disponibilidade e apoio informático.

À minha irmã, Cláudia, por todo o carinho, dedicação e apoio prestados não só ao longo da realização deste trabalho mas também ao longo da minha vida. Sem ela não teria conseguido. Obrigada maninha!

Ao Tiaguinho pelos sorrisos e gu-gu-dá-dás.

Aos meus pais, pelos ensinamentos e incentivos que sempre me concederam, por acreditarem em mim e, especialmente, pelo seu amor incondicional.

Resumo

A encapsulação pode afectar adversamente as tácticas de protecção biológica efectuadas por parasitóides, ao reduzir a sua eficácia, conduzindo a maior frequência de pululações das pragas. Assim, estudos laboratoriais relativos à capacidade de um insecto hospedeiro impedir o desenvolvimento dos seus parasitóides através da encapsulação assumem particular importância na avaliação do seu potencial como agentes de protecção biológica.

O presente trabalho teve como objectivo estudar a influência da espécie de hospedeiro na encapsulação de ovos do parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) por seis espécies de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae), nomeadamente *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *Pseudococcus viburni* (Signoret), *Paracoccus* sp. and *Delottococcus* sp.. O parasitóide *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) foi seleccionado como referência comparativa, em relação aos hospedeiros *P. citri*, *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp.. Para o efeito, foram comparados vários parâmetros relativos à oviposição e encapsulação.

Os resultados evidenciaram que o padrão de oviposição do parasitóide e a taxa de encapsulação dependem da combinação hospedeiro-parasitóide e que a fêmea do parasitóide é capaz de avaliar o nível de resistência do hospedeiro e de adequar o número de ovos postos por hospedeiro em função desse nível de resistência.

Palavras-chave: *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci*, *Leptomastix dactylopii*, cochonilhas-algodão, encapsulação, superparasitismo, protecção biológica

Abstract

The encapsulation can adversely affect biological control, by reducing their parasitoid effectiveness, leading to new outbreaks of insect pests. Thus, laboratorial studies related to the capability of an insect host to prevent the development of its parasitoids by encapsulation can be of extreme importance for the evaluation of their potential as agents of biological control.

The present study was aimed at investigating the influence of the host species on the encapsulation of the eggs of the parasitoid wasp *Anagyrus* sp. nov. near *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) by six mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae), namely *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *Pseudococcus viburni* (Signoret), *Paracoccus* sp. and *Delottococcus* sp.. The parasitoid wasp *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) was selected as a comparative reference with respect to the host mealybugs *P. citri*, *Paracoccus* sp. and *Delottococcus* sp.

The results suggest that the oviposition pattern and the encapsulation rates dependent on the combination host-parasitoid and that the parasitoid females are able to assess the physiological suitability of each host and change the oviposition pattern according to the level of host resistance.

Key-words: *Anagyrus* sp. nov. near *pseudococci*, *Leptomastix dactylopii*, mealybugs, encapsulation, superparasitism, biological control

Extended abstract

Insects lack adaptive immunity but possess an effective innate immune system that successfully combats infections. Large eukaryotic parasites that invade the host hemocoel generally provoke a series of immune effector responses mediated in large part by circulating blood cells (hemocytes) that rapidly form multilayer capsules around foreign organisms (encapsulation). This cellular immune response is affected by several factors, in particular the association parasitoid-host.

The encapsulation can adversely affect biological control, by reducing their parasitoid effectiveness, leading to new outbreaks of insect pests. Thus, laboratorial studies related to the capability of an insect host to prevent the development of its parasitoids by encapsulation can be of extreme importance for the evaluation of their potential as agents of biological control.

The present study was aimed at investigating the influence of the host species on the encapsulation of the eggs of the parasitoid wasp *Anagyrus* sp. nov. near *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) by six mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae), namely *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *Pseudococcus viburni* (Signoret), *Paracoccus* sp. and *Delottococcus* sp.. The parasitoid wasp *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) was selected as a comparative reference with respect to the host mealybugs *P. citri*, *Paracoccus* sp. and *Delottococcus* sp..

The oviposition pattern and the encapsulation rate showed to be dependent on the host species. The oviposition pattern of *A. sp. nov. near pseudococci* was mostly consisted of solitary eggs, except for *P. calceolariae*, where the superparasitism prevailed.

The low superparasitism rates observed in *P. citri* and *P. ficus* suggest that *A. sp. nov. near pseudococci* is physiologically adapted to these hosts. The high rates of superparasitism observed in *P. calceolariae* may represent an active strategy of the parasitoid wasp to reduce the encapsulation.

Regarding the efficiency of the two parasitoids, *A. sp. nov. near pseudococci* and *L. dactylopii*, there were no significant differences in the parameters studied. The oviposition pattern of the two parasitoids in *P. citri* and *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. was similar for the same host mealybug, but differed between hosts. The results suggest that the females of *A. sp. nov. near pseudococci* are able to assess the physiological suitability of each host and change its oviposition pattern according to the level of host resistance. The intensity of the encapsulation response can be determined by a factor directly related to the number of eggs laid in the mealybugs by the parasitoid female.

The parasitism rate ranged between 39 and 90%, depending on the host species. The higher parasitism rates were registered in *P. citri*, *P. calceolariae* and *P. ficus* and the lower parasitism rates in *P. viburni* and *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp.

The results suggest that *A.* sp. nov. near *pseudococci* is a potential choice for biological control programs against the mealybugs pests *P. citri*, *P. ficus*, *P. viburni*, *Paracoccus* sp. and *Delottococcus* sp.. However, the physiological suitability of a host for the development of a parasitoid is not the only issue to consider in a biological control program, it will be also necessary to assess the suitability of the host under field conditions, namely the ability of the parasitoid to efficiently find the host and accept it for oviposition.

Índice

Agradecimentos

Resumo	i
Abstract	ii
Extended abstract	iii
Índice	v
Índice de figuras	viii
Índice de quadros	x

I. Introdução	1
---------------	---

II. Revisão bibliográfica	4
---------------------------	---

1. Selecção de agentes de protecção biológica	4
2. A encapsulação como mecanismo de defesa	7
2.1. A encapsulação	7
2.2. Controlo genético	12
3. Factores que afectam a encapsulação nas cochoilhas	13
3.1. Relação parasitóide-hospedeiro	14
3.2. Idade fisiológica do hospedeiro	15
3.3. Condição fisiológica do hospedeiro	16
3.4. Origem do hospedeiro e do parasitóide	17
3.5. Superparasitismo	17
3.6. Temperatura	18
3.7. Planta hospedeira	20
4. Importância da encapsulação na protecção biológica	20
5. Resistência à encapsulação	23
5.1. Tipos de resistência	23
5.1.1. Desenvolvimento em locais inacessíveis aos hemócitos	24
5.1.2. Oviposição em instares jovens e superparasitismo	24
5.1.3. Mimetismo molecular	26
5.1.4. Injecção de vírus e substâncias diversas	27
5.1.5. Teratócitos	29
5.2. A resistência à encapsulação e a luta biológica	30
6. A encapsulação de <i>Anagyrus</i> sp. nov. próx. <i>pseudococci</i> (Girault) pelas cochoilhas-algodão: estado da arte.	31

Efeito da encapsulação na actividade do parasitóide de cochonilhas-algodão
Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci

III. Material e métodos	34
1. Obtenção, criação e manutenção das populações de cochonilhas-algodão	34
1.1. <i>Paracoccus</i> sp. e <i>Delottococcus</i> sp.	35
1.2. <i>Planococcus citri</i> (Risso), <i>Planococcus ficus</i> (Signoret), <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell) e <i>Pseudococcus viburni</i> (Signoret)	36
2. Obtenção, criação e manutenção das populações de parasitóides	37
3. Procedimento experimental	38
4. Determinação dos níveis de encapsulação e restantes parâmetros	41
5. Análise estatística	43
IV. Resultados	44
1. Oviposição e Superparasitismo	44
2. Proporção de ovos encapsulados	47
3. Encapsulação agregada	49
4. Encapsulação efectiva	51
5. Encapsulação efectiva relativa	52
6. Taxa de parasitismo	53
V. Discussão	57
VI. Conclusões	64
VII. Referências bibliográficas	66
Anexo 1	A1
Anexo 2	A2
Anexo 3	A16

Índice de Figuras

Figura 1. Exemplos de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) (originais da autora): A - <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell); B - <i>Pseudococcus viburni</i> (Signoret); C - <i>Planococcus ficus</i> (Signoret); D - <i>Planococcus citri</i> (Risso); E - <i>Paracoccus</i> sp..	2
Figura 2. Encapsulação humoral: formação de cápsulas melanóticas envolvendo elementos estranhos ao hospedeiro, sem participação directa de hemócitos (Götz 1986).	9
Figura 3. Encapsulação celular: formação de cápsula à volta do ovo de <i>Anagyrus pseudococci</i> (Girault) <i>sensu latum</i> (Hemiptera: Encyrtidae), com participação directa dos hemócitos do hospedeiro <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) (original da autora).	9
Figura 4. Hemócitos envolvidos nas reacções de encapsulação de organismos estranhos em larvas de <i>Manduca sexta</i> L. (Lepidoptera): A - Plasmatócitos (marcados a amarelo); B - Granulócitos (marcados a vermelho) (Yu 2002).	11
Figura 5. Encapsulação em: A - Coccidae; B - Diaspididae; C - Pseudococcidae (Blumberg 2003).	14
Figura 6. A - Larva de parasitóide em desenvolvimento, após ter escapado de uma cápsula incompleta; B - Cápsulas incompletas das quais os parasitóides conseguiram escapar, sobrevivendo à encapsulação (Blumberg 2003).	17
Figura 7. Fêmea adulta de <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) superparasitada por <i>Anagyrus pseudococci</i> (Girault) <i>sensu latum</i> (Hemiptera: Encyrtidae), 24 horas após o parasitismo (original da autora).	25
Figura 8. As fêmeas da família Braconidae albergam partículas virais nos tractos reprodutivos (nas células do cálice): A - Esquema simplificado do ovário das fêmeas desta família; B - Partículas de polidnavírus presentes no cálice do ovário; (Blumberg 2003).	28
Figura 9. Microfotografia de microscópio electrónico de varrimento de um teratócito de <i>Microplitis</i> sp., cinco dias após a sua formação (Dahlman & Vinson 1993).	29
Figura 10. Gaiola contendo duas plantas envasadas do género <i>Leucospermum</i> (unidade experimental) (original da autora).	35

- Figura 11.** Brolhos de batata (*Solanum tuberosum* L.) infestados com *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) (original da autora). 36
- Figura 12.** Espécies de parasitóides estudadas:
- A- Fêmea adulta de *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) (3mm) (original da autora). 39
- B- Fêmea adulta de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triaptsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) (2mm) (original da autora).
- Figura 13.** Eppendorf contendo as cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) em álcool etílico a 70%, para posterior observação dos níveis de encapsulação. 39
- Figura 14.** Contentor de criação contendo 80 fêmeas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae), instaladas nos brolhos da batata, e 10 fêmeas de parasitóide (Hemiptera: Encyrtidae). 39
- Figura 15.** Fêmea em postura de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae): observam-se as secreções cerosas que cobrem o corpo destas cochonilhas (original da autora). 41
- Figura 16.** Exemplares de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) parasitados:
- A - pupa com desenvolvimento normal (*Planococcus ficus* (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triaptsyn et al. 2007));
- B - ovo encapsulado (*Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)); 42
- C - vários ovos encapsulados (superparasitismo) (*Pseudococcus calceolariae* (Maskell) x *Leptomastix dactylopii* Howard) (originais da autora).
- Figura 17.** Distribuição de frequências do número de ovos postos por fêmea de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) em cada hospedeiro (Hemiptera: Pseudococcidae) estudado. 44
- Figura 18.** Distribuição de frequências do número de ovos postos por fêmea de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae). 45
- Figura 19.** Valores de encapsulação agregada (EA), encapsulação efectiva (EE) e encapsulação efectiva relativa (REE) dos ovos de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) em cada hospedeiro (Hemiptera: Pseudococcidae) estudado. 49
- Figura 20.** Valores de encapsulação agregada (EA), encapsulação efectiva (EE) e encapsulação efectiva relativa (REE) de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae). 50

- Figura 21.** Valores de encapsulação agregada (EA), encapsulação efectiva (EE) e encapsulação efectiva relativa (REE) de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Paracoccus* sp./*Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae). 50
- Figura 22.** Valores de taxa de parasitismo de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) observados nas cinco combinações hospedeiro-parasitóide estudadas. 54
- Figura 23.** Valores de taxa de parasitismo observados nas combinações hospedeiro-parasitóide estudadas de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae). 54
- Figura 24.** Valores de taxa de parasitismo de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) observados em *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae). 55

Índice de Quadros

- Quadro 1** – Origem, hospedeiro vegetal e datas de recolha de populações de cochonilhas-algodão, *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae), utilizadas nos ensaios. 35
- Quadro 2** – Origem, hospedeiro vegetal e datas de recolha de populações de cochonilhas-algodão, *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Pseudococcus viburni* (Signoret) (todos Hemiptera: Pseudococcidae), utilizadas para criação em massa, em condições controladas de laboratório. 37
- Quadro 3** – Origem, hospedeiro vegetal e datas de recolha de populações do parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (ambos Hymenoptera: Encyrtidae) obtidos a partir de colónias de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae), utilizadas para criação em massa em condições controladas de laboratório. 37
- Quadro 4** – Período de realização dos ensaios e número de gerações em laboratório dos parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (ambos Hymenoptera: Encyrtidae) utilizados nos ensaios com as cochonilhas-algodão: *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *Pseudococcus viburni* (Signoret), *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp. (todos Hemiptera: Pseudococcidae). 40
- Quadro 5** – Taxa média de superparasitismo (\pm erro padrão) relativa a três situações de superparasitismo, nas combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) (SP= cochonilhas com dois ou mais ovos, SP III= cochonilhas com três ou mais ovos, SP IV= cochonilhas com quatro ou mais ovos). 46
- Quadro 6** – Taxa média de superparasitismo (\pm erro padrão) relativa a três situações de superparasitismo, nas combinações entre o hospedeiro *Planococcus citri* (Risso) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) (SP= cochonilhas com dois ou mais ovos, SP III= cochonilhas com três ou mais ovos, SP IV= cochonilhas com quatro ou mais ovos). 46

- Quadro 7** – Distribuição de frequências do número de ovos por hospedeiro nas combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae). 46
- Quadro 8** – Valor médio (\pm erro padrão) de diferentes parâmetros de postura e encapsulação de ovos dos parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) nas cochonilhas-algodão estudadas (*Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus viburni* (Signoret) e *Paracoccus* sp./*Delottococcus* sp.) (Hemiptera: Pseudococcidae). 47
- Quadro 9** – Número médio (\pm erro padrão) de ovos por hospedeiro parasitado e de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado, nas combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae). 48
- Quadro 10** – Número médio (\pm erro padrão) de ovos por hospedeiro parasitado e número médio de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado, nas combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 48
- Quadro 11** - Número médio (\pm erro padrão) de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado, nas combinações entre *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 48
- Quadro 12** – Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação agregada (EA) e parâmetros estatísticos relativos às combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae). 51
- Quadro 13** – Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação agregada (EA) e parâmetros estatísticos relativos às combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 51

- Quadro 14** – Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação agregada relativa às combinações entre *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 51
- Quadro 15** – Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva relativa às combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae). 52
- Quadro 16** – Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva relativa às combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 52
- Quadro 17** – Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva relativa às combinações entre *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 52
- Quadro 18** – Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva relativa relativa às combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae). 53
- Quadro 19** – Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva relativa relativa às combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 53
- Quadro 20** – Taxa média (\pm erro padrão) de parasitismo relativa às combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae). 55
- Quadro 21** - Taxa média (\pm erro padrão) de parasitismo e parâmetros estatísticos relativos às combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 56
- Quadro 22** - Taxa média (\pm erro padrão) de parasitismo relativa às combinações entre *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). 56

Quadro 23 – Caracterização da relação parasitóide-hospedeiro com base nos níveis de encapsulação (encapsulação agregada, EA, e encapsulação efectiva, EE) e superparasitismo (SP) (adaptado de Blumberg et al. 2001).	61
--	----

I. Introdução

As espécies de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) que assumem importância económica em diversas culturas, nomeadamente, citrinos, vinha, culturas protegidas, cacauzeiro e plantas ornamentais, são frequentemente insectos polípagos e cosmopolitas, presentes em muitos países das regiões temperadas, sub-tropicais e tropicais (Franco et al. 2000).

A importância das cochonilhas-algodão está relacionada com os estragos e perdas que provocam nos seus hospedeiros vegetais, resultado da sua actividade alimentar e da excreção de melada (proveniente do metabolismo do insecto). Como consequência directa da sua alimentação, observam-se alterações fisiológicas na planta ou órgãos atacados, devido à remoção de seiva (descolorações e deformações dos tecidos, queda de frutinhos e folhas). Por outro lado, a excreção de melada origina o aparecimento de fungos saprófitas (por exemplo, fumagina) e outros insectos colectores de melada (por exemplo, formigas), funcionando também como barreira física, afectando as trocas gasosas dos tecidos e o processo de fotossíntese e desvalorizando a produção comercial das culturas (Silva 2000). Algumas espécies podem ainda estar associadas à transmissão de vírus (Franco 1997).

Existem diversas espécies de cochonilhas-algodão com importância económica, entre elas, as cochonilhas-algodão dos citrinos, *Planococcus citri* (Risso) (**Fig. 1D**), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) (**Fig. 1A**) e *Pseudococcus viburni* (Signoret) (**Fig. 1B**), e a cochonilha-algodão da vinha, *Planococcus ficus* (Signoret) (**Fig. 1C**) (Franco 1997, Franco et al. 2000, 2004). As espécies *Paracoccus* sp. (**Fig. 1E**) e *Delottococcus* sp. assumem estatuto de praga-chave na cultura das proteáceas em Portugal (Passarinho et al. 2006; Ben-Dov et al. 2008).

Os pseudococcídeos têm elevado número de inimigos naturais, sendo de destacar os parasitóides himenópteros, principalmente encirtídeos, como *Anagyrus pseudococci* (Girault) *sensu latum* (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) (Franco et al. 2000, 2008). Contudo, apesar da diversidade de espécies e da sua importância, o seu papel como agentes de limitação natural poderá não ser suficiente para impedir que estas cochonilhas atinjam níveis populacionais superiores aos economicamente aceitáveis (Franco et al. 2000). Como tácticas de protecção biológica, podem-se realizar largadas aumentativas de insectos predadores e/ou parasitóides, ou fomentar a limitação natural, criando condições sustentáveis para a entomofauna auxiliar (Franco et al. 2006).

Vários factores têm sido referidos como interferindo na acção dos inimigos naturais dos pseudococcídeos. No caso do endoparasitóide solitário da cochonilha-algodão *A. pseudococci* s.l., a resposta imunitária do hospedeiro, através da encapsulação dos ovos, é um factor que condiciona a acção deste parasitóide como agente de limitação natural (Franco et al. 2000, 2004, Blumberg et al. 2001). A encapsulação é afectada por diversos factores, entre os quais, a espécie do hospedeiro e do parasitóide.

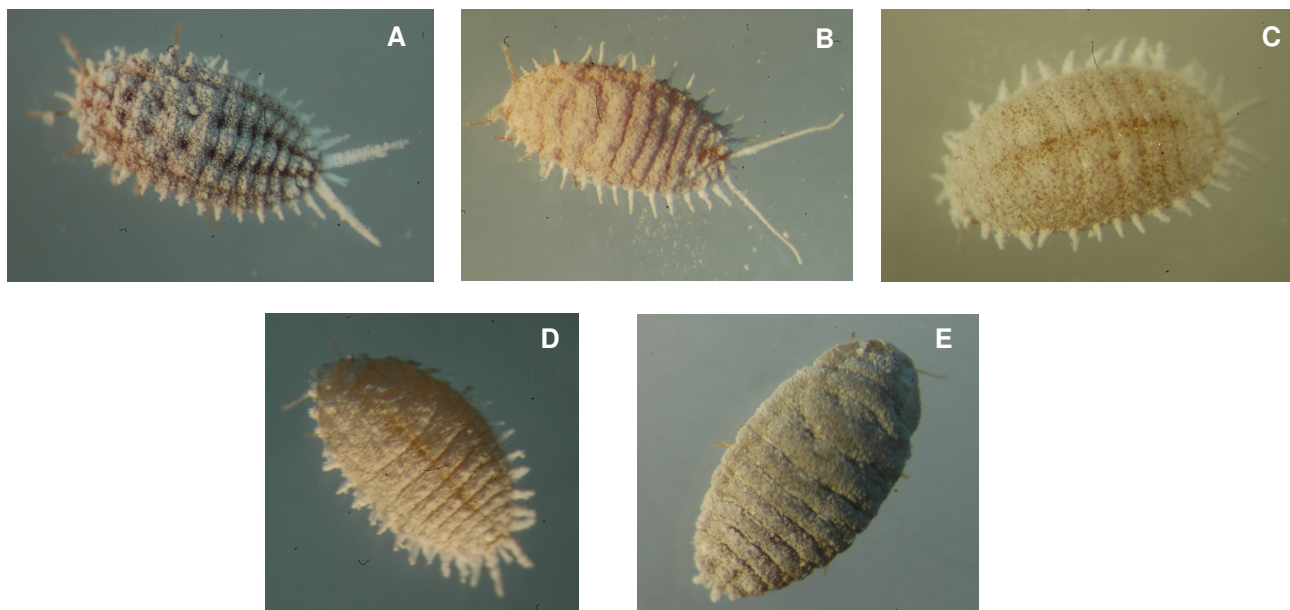


Fig. 1 - Exemplares de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) (originais da autora):

- A** - *Pseudococcus calceolariae* (Maskell);
- B** - *Pseudococcus viburni* (Signoret);
- C** - *Planococcus ficus* (Signoret);
- D** - *Planococcus citri* (Risso);
- E** - *Paracoccus* sp..

Este trabalho teve como objectivo estudar o efeito do hospedeiro na taxa de encapsulação de ovos de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007), seleccionando como casos de estudo as cochonilhas-algodão *P. citri*, *P. calceolariae*, *P. ficus*, *P. viburni*, *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp. Como referência comparativa, seleccionou-se o parasitóide *L. dactylopii* e os hospedeiros *P. citri*, *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp. Tendo por base a comparação de diferentes combinações parasitóide-hospedeiro estudadas, procedeu-se à análise de vários parâmetros relativos à oviposição e encapsulação. Com este estudo, pretendeu-se contribuir para o esclarecimento do processo da encapsulação nestas espécies, tendo em vista o desenvolvimento de tácticas de protecção biológica mais eficazes contra estas pragas.

A importância de estudos sobre a encapsulação de parasitóides pelos seus hospedeiros fitófagos insere-se num contexto de aplicação da protecção biológica. Antes da introdução de uma determinada espécie de parasitóide, com o intuito de controlar a população de uma praga, deve-se ter em conta a adaptabilidade do hospedeiro para esse parasitóide. Por exemplo, elevadas taxas de encapsulação efectiva limitam a sua eficácia como agente de limitação natural.

O trabalho foi estruturado em sete capítulos. Após a introdução (Capítulo I), segue-se a revisão bibliográfica (Capítulo II), na qual é feita referência a aspectos da protecção biológica clássica e neoclássica, dando ênfase à selecção de agentes de protecção biológica. No mesmo capítulo faz-se ainda referência à encapsulação como mecanismo de defesa dos insectos hospedeiros e os factores que a podem afectar, focando-se a importância da encapsulação na protecção biológica e nos aspectos referentes à resistência dos parasitóides à encapsulação pelos seus hospedeiros. No final deste capítulo, é retratado o estado actual dos conhecimentos sobre a encapsulação de *A. pseudococci* s.l. pelas cochonilhas-algodão. No terceiro capítulo, são descritos os materiais e métodos utilizados, seguindo-se a apresentação de resultados (Capítulo IV), a sua discussão (Capítulo V) e respectivas conclusões (Capítulo VI).

II. Revisão bibliográfica

1. Selecção de agentes de protecção biológica

A **protecção biológica** pode definir-se como utilização de inimigos naturais para suprimir populações de inimigos das culturas, diminuindo a sua abundância e os estragos associados. Actualmente, os inimigos naturais usados para controlar pragas de insectos e ácaros incluem grande diversidade de predadores, parasitóides e patógenos. Foram desenvolvidas estratégias específicas para a realização de largadas de inimigos naturais ou para a melhoria da sua persistência e actividade. Os agentes de protecção biológica são amplamente usados em áreas ambientais muito sensíveis ou ambientes controlados, e constituem componentes importantes de programas de protecção integrada (Landis & Orr 1996).

A **protecção biológica clássica** contra pragas invasoras não é mais do que uma tentativa de reconstrução do complexo de inimigos naturais existente na respectiva região de origem. Admite-se que as ligações na cadeia trófica resultantes da reconstrução do complexo de inimigos naturais da praga proporcionam o estabelecimento de uma comunidade ecologicamente mais estável e um controlo mais consistente da praga. Contudo, Mills (1994) argumenta que esta forma de actuar não é prática, nem necessariamente a mais correcta.

É essencial considerar qual a espécie (**abordagem analítica**) ou combinação de espécies (**abordagem empírica** - mais comum) de inimigos naturais que resulta na maior e mais consistente supressão da praga em causa. Neste sentido, pode-se atingir um maior controlo da praga ao construir selectivamente uma comunidade de inimigos naturais, tendo este propósito em mente, em vez de se basear na comunidade que evoluiu naturalmente (Mills 1994).

A aplicação da protecção biológica clássica a pragas nativas, através da importação de inimigos naturais de hospedeiros exóticos relacionados, foi designada por Lockwood (1992) como **protecção biológica neoclássica**. Esta forma de protecção biológica também proporcionou alguns êxitos espantosos, apesar das pragas nativas permanecerem um alvo descurado para importações de inimigos naturais (Mills 1994).

A protecção biológica clássica proporciona oportunidade para reconstruir parcialmente o complexo de inimigos naturais de uma praga invasora, enquanto a protecção biológica neoclássica faculta a oportunidade de adicionar espécies ao complexo de inimigos naturais de uma praga nativa para produzir uma nova comunidade de inimigos naturais com um ainda maior potencial de controlo da praga do que o obtido com as espécies que evoluíram

em conjunto. Neste contexto, Ehler (1994) propôs a classificação das comunidades de inimigos naturais em: **comunidades naturais**, que evoluíram naturalmente, constituídas por espécies nativas que exploram o insecto hospedeiro no respectivo local de origem e possuem longa história de co-evolução com o hospedeiro e entre elas; **comunidades reestruturadas**, resultantes da adição de uma ou mais espécies exóticas, fortuitamente ou através da protecção biológica neoclássica; e **comunidades sintéticas**, resultantes de actividade humana, como a protecção biológica clássica e as largadas inundativas e inoculativas, podendo possuir membros com nenhuma, ou quase nenhuma, história de co-evolução.

Na região de origem de dada espécie fitófaga encontram-se associadas várias espécies de parasitóides, estas constituem uma “comunidade natural de parasitóides”, cujos membros podem permanecer relativamente constantes ou variar consideravelmente em diferentes zonas da área geográfica de distribuição do hospedeiro (Ehler 1994). As espécies dentro de uma comunidade de parasitóides, frequentemente, apresentam diferenças na sua utilização dos sucessivos instares do hospedeiro. Esses padrões de utilização do hospedeiro definem **nichos**. As espécies que ocupam o mesmo nicho formam uma **guilde** (Mills 1994), isto é, “grupo de espécies simpátridas que exploram um hospedeiro (ou um dos seus instares) de uma forma similar, de tal modo que os membros de uma guilde interagem directamente através da competição por interferência” (Ehler 1994).

O facto das guildes naturais terem sido reestruturadas por espécies exóticas sugere claramente que, apesar da sua longa história de co-evolução, não estão necessariamente saturadas, ou em equilíbrio, no que respeita à riqueza de espécies. Assim, é possível adicionar novas espécies às guildes naturais de parasitóides, existindo base teórica adicional para a protecção biológica neoclássica (Ehler 1994).

Doutt (1961) estudou o efeito da variação geográfica na incidência e abundância de vários parasitóides e usou este conhecimento na prática de introduções de múltiplas espécies de inimigos naturais contra pragas com ampla distribuição geográfica. Com o intuito de minimizar o potencial de interacções antagonistas, isto é, competição interespecífica, podem seleccionar-se espécies de parasitóides de forma a não se sobreporem no seu parasitismo (ex. Price 1970,1971, Force 1974, Mills 1994).

Segundo Force (1974), um simples membro da guilde de parasitóides pode ser tão ou mais eficaz que toda a guilde. Isto levanta a possibilidade de remoção de espécies (ex. hiperparasitóides), em que dada espécie é eliminada de uma guilde de parasitóides, de forma a aumentar o impacte global da guilde na população do hospedeiro (Bennett 1981, Ehler 1992).

A libertação de espécies seleccionadas de uma comunidade de parasitóides pode proporcionar melhor protecção biológica do que a libertação indiscriminada de muitos

parasitóides, devido aos compromissos existentes entre o potencial reprodutivo e a capacidade competitiva, isto é, competição contrabalançada (Mills 1994). Nesta base, Pschorn-Walcher (1977) sugere que a melhor estratégia para a reconstrução de comunidades de parasitóides através da protecção biológica pode ser a libertação em primeiro lugar de parasitóides altamente adaptados, embora competitivamente inferiores, de forma a permitir que eles exerçam o seu potencial de controlo na ausência de competidores, e só então libertar espécies adicionais (por exemplo, parasitóides acidentais) se o nível de controlo for insuficiente (Ehler 1982, 1990, 1992).

Uma extensa gama de factores externos, como o tamanho da planta hospedeira, a biologia do hospedeiro e do parasitóide e os parâmetros climáticos, influenciam a estrutura das comunidades de parasitóides e/ou o impacto das espécies componentes no hospedeiro (exemplos: Askew & Shaw 1986, Hawkins 1990, Mills 1994).

As decisões adaptativas tomadas pelas fêmeas de parasitóides podem ser influenciadas pela estrutura da guilda em causa. Por exemplo, a alimentação (em oposição à oviposição), por parte das fêmeas adultas, a partir de tecidos e da hemolinfa do hospedeiro, é um aspecto crítico do comportamento parasitóide (Jervis & Kidd 1986), tendo importantes implicações na protecção biológica (Kidd & Jervis 1991).

A previsibilidade da abundância do hospedeiro pode ser um factor importante na limitação da estrutura e riqueza de espécies, nas comunidades de parasitóides (ex. Mills 1990). Os parasitóides que são membros dominantes da comunidade a baixas densidades podem estar totalmente ausentes durante as pululações do hospedeiro e vice-versa (Mills 1994). De igual modo, um parasitóide pode mostrar um tipo de resposta (ex. dependência directa da densidade), quando livre de competição, e outro (ex. dependência inversa da densidade) em situações altamente competitivas (Ehler 1994).

Uma espécie hospedeira pode suportar diferentes comunidades de parasitóides ou pode experimentar diferentes níveis de parasitismo, pelas mesmas espécies de parasitóides, em diferentes plantas hospedeiras (Mills 1994). Idealmente, os parasitóides seleccionados para a importação e libertação devem ser aqueles que estão mais bem adaptados, não só ao hospedeiro alvo, mas também à planta hospedeira em causa (Mills 1994).

A complexidade das comunidades de parasitóides sugere que existem importantes decisões a tomar na selecção de candidatos para a reconstrução de comunidades sintéticas através da protecção biológica clássica. Por exemplo, a combinação de elevada densidade de um parasitóide para induzir o colapso de uma pululação da praga e uma baixa densidade de outro parasitóide para manter a praga a densidades endémicas, pode formar uma comunidade de parasitóides ideal para a protecção biológica clássica (Embree 1966, Mills & Nealis 1992, Mills 1994, Tagaki & Hirose 1994).

Ao reestruturar a comunidade natural de parasitóides com o propósito da protecção biológica neoclássica enfrenta-se um desafio muito diferente. O preenchimento de um nicho disponível, na estrutura de uma comunidade nativa de parasitóides, ou a substituição de um parasitóide nativo ineficaz por um parasitóide exótico, são duas possibilidades em protecção biológica neoclássica (Mills 1994).

Por outro lado, pode não ser necessário descobrir um nicho vazio para um parasitóide exótico se as comunidades nativas de parasitóides não estiverem saturadas. Ehler & Hall (1982) fornecem alguma evidência de que a taxa de estabelecimento de novos parasitóides está inversamente relacionada com o número de espécies que já estão presentes nas comunidades de parasitóides.

A reestruturação de uma comunidade de parasitóides requer tomadas de decisão similares às da selecção de espécies na protecção biológica clássica. Por exemplo, se as espécies já existentes na comunidade nativa desempenham algum papel na supressão da praga nativa, então poderá ser imprudente a introdução de um parasitóide com interacções antagonistas. Contudo, em adição às preocupações gerais das interacções dos parasitóides que se aplicam à protecção biológica clássica, existem algumas características únicas da protecção biológica neoclássica que também devem ser consideradas (Mills 1994). Primeiro, o parasitóide deve ser fisiologicamente compatível com o seu novo hospedeiro, aceitar o novo hospedeiro para oviposição, sendo capaz de evitar ou suprimir a reacção imunológica do novo hospedeiro (por exemplo, encapsulação) e sincronizar o seu crescimento e desenvolvimento com o do hospedeiro. Em segundo lugar, o parasitóide deverá ser capaz de localizar com êxito o novo hospedeiro, respondendo aos sinais da planta hospedeira, assim como aos sinais associados ao próprio hospedeiro (Mills 1994).

2. A encapsulação como mecanismo de defesa

2.1. A encapsulação

Quando os insectos são atacados por parasitas e patogénios, respondem com um arsenal de reacções de defesa análogas, contudo bastante diferentes, aos anticorpos do sistema imunitário dos vertebrados (Hoffman 1995). A imunidade adquirida dos vertebrados não existe nos insectos (Kraaijeveld et al. 1998). As defesas imunitárias dos insectos podem ser mediadas pelas células da hemolinfa, denominadas hemócitos, e incluem: a fagocitose, isto é, ingestão de pequenos corpos estranhos, por exemplo bactérias; a aglutinação de proteínas estranhas; a encapsulação, isto é, envolvimento e sufocação de parasitas de maiores dimensões, por exemplo ovos de parasitóide; e a produção de péptidos e proteínas

de defesa que actuam como defesas não específicas contra patógenos e parasitas, nomeadamente, partículas virais, bactérias, fungos, nemátodes e ovos e larvas de parasitóides (Tanaka & Wago 1990, Kraaijeveld et al. 1998, Lavine & Strand 2002). Os insectos hospedeiros conseguem, assim, sobreviver a infecções microbianas e parasitárias através de mecanismos de defesa humoral e celular (Lavine & Strand 2002).

Os **mecanismos de defesa humoral** compreendem a síntese de proteínas imunológicas (ex. péptidos antimicrobiais; enzimas, que regulam a coagulação e a melanização da hemolinfa; e moléculas citotóxicas, nomeadamente, intermediários reactivos de oxigénio) (Tanaka & Wago 1990, Hoffman 1995, Lavine & Strand 2002). As respostas humorais têm sido pouco estudadas, sendo mais importantes em grupos como os afídeos (exemplos: Henter & Via 1995, Kraaijeveld et al. 1998).

Os **mecanismos de defesa celular** referem-se a respostas mediadas por hemócitos, do tipo fagocitose, formação de nódulos e encapsulação (Tanaka & Wago 1990, Hoffman 1995, Lavine & Strand 2002). As respostas celulares estão melhor estudadas a nível fisiológico e até molecular (Ratcliffe 1993, Strand & Pech 1995, Gillespie et al. 1997, Kraaijeveld et al. 1998). Para o êxito da defesa contra os organismos invasores, é importante a cooperação entre reacções imunológicas celulares e humorais numa interligação bem contrabalançada (Tanaka & Wago 1990, Lavine & Strand 2002).

A **encapsulação** é um mecanismo de defesa fisiológico exercido por um insecto hospedeiro em resposta à invasão por um parasitóide ou outro organismo estranho (intrusão de elementos externos) (Blumberg 1990, 1997a,b, Sagarra et al. 2000, Blumberg et al. 2001).

No processo de **encapsulação humoral**, ocorre formação de uma cápsula de melanina à volta do parasitóide sem participação directa dos hemócitos (**Fig. 2**). A encapsulação humoral está correlacionada com baixos níveis de hemócitos, sendo um processo bastante rápido (apenas alguns minutos) e altamente eficiente contra fungos, nemátodes e bactérias (Blumberg 1997a,b). Encontra-se descrita em diversas espécies da Ordem Diptera.

No processo de **encapsulação celular**, os hemócitos do hospedeiro reconhecem um organismo invasor (por exemplo, ovo ou larva de parasitóide) como estranho, circundam-no e aderem à sua superfície, formando uma cápsula multicelular, do tipo invólucro, à sua volta (Ratner & Vinson 1983, Blumberg 1997a,b, Kraaijeveld et al. 1998, Sagarra et al. 2000, Wiegand et al. 2000, Blumberg et al. 2001, Reed et al. 2007, Stanley & Miller 2006, **Fig. 3**). Trata-se de um mecanismo de defesa geral do hospedeiro efectuado pelos hemócitos. A encapsulação só é efectiva contra parasitóides que inserem os seus ovos e completam inteiramente o seu desenvolvimento no interior do corpo do hospedeiro, isto é, endoparasitóides (Blumberg 1990, 1997a), sendo comum entre artrópodes e invertebrados relacionados (Kraaijeveld et al. 1998, Blumberg & van Driesche 2001, Blumberg et al. 2001).

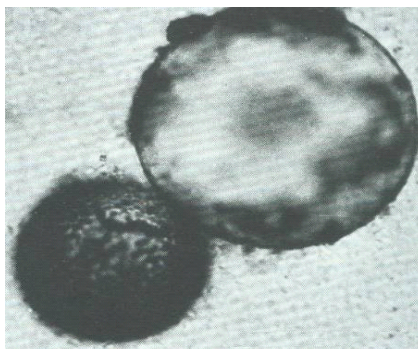


Fig. 2 - Encapsulação humoral: formação de cápsulas melanóticas envolvendo elementos estranhos ao hospedeiro, sem participação directa de hemócitos (Götz 1986).



Fig. 3 - Encapsulação celular: formação de cápsula à volta de um ovo de *Anagyrus pseudococci* (Girault) *sensu latum* (Hymenoptera: Encyrtidae), com participação directa dos hemócitos do hospedeiro *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) (original da autora).

Os pormenores da encapsulação diferem entre taxones (Kraaijeveld et al. 1998), mas, com frequência, as células mais internas das cápsulas formadas à volta de organismos vivos sofrem **melanização**, isto é, deposição de melanina (Blumberg 1990, 1997a,b, Sagarra et al. 2000, Johnson & Christensen 2001). A melanina é formada principalmente durante a oxidação e polimerização dos fenóis, como a tirosina e a dopamina, por enzimas denominadas colectivamente por fenoloxidasas (Nappi et al. 1991, 1992, Blumberg 1997a,b, Beckage 1998). As fenoloxidasas não são essenciais para o reconhecimento de corpos estranhos e para a encapsulação, mas são requeridas para o escurecimento e endurecimento das cápsulas hemocíticas (Rizki & Rizki 1990). Outras enzimas participam no processo de encapsulação melanótica, como é o caso da monofenol oxidase, da fenilalanina hidroxilase e da glucose dehidrogenase (Nappi et al. 1991, Li et al. 1992, Hillyer & Christensen 2002, Johnson et al. 2003). Esta última participa no fortalecimento da encapsulação e na morte do organismo encapsulado, através da reacção com quinonas geradas pela fenoloxidase e subsequente produção de radicais livres (Cox-Foster & Stehr 1994). Estas moléculas, juntamente com os produtos intermédios melanóticos, vão destruir os endoparasitóides (Nappi & Vass 1998).

A reacção de defesa celular pode encontrar-se sob controlo hormonal inibitório. A aplicação de anti-hormonas juvenis causa fortes reacções de encapsulação, sendo a melanização bastante pronunciada (Khafagi & Hegazi 2001). Pelo contrário, quando os níveis de ecdisona são baixos ou o sinal da ecdisona é bloqueado, a resposta de encapsulação é seriamente comprometida. A ecdisona é uma hormona-chave na síntese da melanina, uma vez que regula a expressão da fenoloxidase. A activação desta hormona potencia os precursores dos hemócitos a responderem ao parasitismo pela proliferação e diferenciação (Sorrentino et al. 2002).

A cápsula normalmente isola os ovos ou larvas de parasitóides na hemolinfa do hospedeiro, causando a sua morte por asfixia, fome, inibição física do desenvolvimento (Blumberg 1990, Godfray & Hassell 1993, Blumberg 1997a,b), ou através da libertação de substâncias necrosantes (Kraaijeveld et al. 1998). Isto explica porque as cápsulas têm de ser completas para serem efectivas. Os ovos ou larvas de parasitóides parcialmente encapsulados podem sobreviver à reacção hemocítica e continuar o seu desenvolvimento, o que é demonstrado pela ocorrência de larvas de parasitóide ligadas a reminiscências do córion de ovos encapsulados, indicando que a formação da cápsula à volta do ovo nem sempre previne a sua eclosão e o posterior desenvolvimento larvar (Blumberg & Goldberg 1992, Blumberg & van Driesche 2001). A inibição do desenvolvimento embrionário, a distorção dos ovos e prevenção do crescimento, o prolongamento do desenvolvimento do parasitóide e a redução da dimensão da respectiva progénie constituem outros efeitos possíveis da encapsulação (Blumberg 1990, 1997a,b).

Uma cápsula completamente formada é composta por vários tipos de hemócitos que diferem entre si na morfologia e função (Lavine & Strand 2002), assim como na frequência entre a população total de hemócitos de dada espécie de insectos (Blumberg 1997a,b). A identidade de todas as classes de hemócitos envolvidas no processo de encapsulação não é clara.

Os granulócitos e os plasmatócitos são as duas principais classes de hemócitos envolvidas na formação da cápsula (Willott et al. 1994, Summers & Dib-Hajj 1995, **Fig. 4**). Após o reconhecimento, como corpo estranho, do organismo invasor ocorre a mobilização dos hemócitos do hospedeiro, sendo os granulócitos os primeiros tipos de células hemocíticas a alcançar o corpo estranho. A desgranulação e desintegração dos granulócitos vão contribuir para a formação de uma matriz na superfície deste. Até a encapsulação estar completa, plasmatócitos e granulócitos continuam a responder à desgranulação e formam múltiplas camadas celulares à volta do corpo estranho. A finalização da cápsula é marcada pelo decréscimo na desgranulação, migração de hemócitos das camadas excedentes exteriores da cápsula e aparecimento de granulócitos vagamente aderentes na superfície exterior da cápsula (Chang et al. 1991, Loret & Strand 1998, Pech & Strand 2000, Wiegand et al. 2000). Estas células acabam por morrer devido a factores libertados pelos plasmatócitos (Pech & Strand 2000).

Existem outras classes de hemócitos que desempenham um papel importante no reconhecimento de organismos invasores e na encapsulação, como é o caso dos lamelócitos e células de cristal, em *Drosophila* spp. (Russo et al. 1996, Sorrentino et al. 2002), dos oenocitóides, em mosquitos (Hillyer & Christensen 2002, Lavine & Strand 2002, Johnson et al. 2003), dos trombocitóides, células esféricas e prohemócitos (Blumberg 1997b).

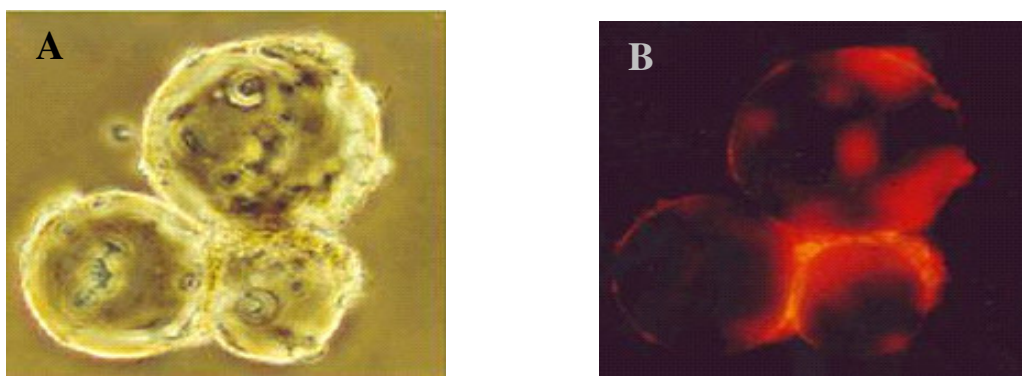


Fig. 4 - Hemócitos envolvidos nas reacções de encapsulação de organismos estranhos em larvas de *Manduca sexta* L. (Lepidoptera):

A - Plasmatócitos (marcados a amarelo);

B - Granulócitos (marcados a vermelho) (Yu 2002).

Para ocorrer a encapsulação dos ovos do parasitóide pelos seus hospedeiros parecem ser requeridas duas condições. A primeira está relacionada com o reconhecimento do parasitóide pelo sistema de defesa do hospedeiro, mediado por um grupo de proteínas denominadas moléculas de adesão e citoquinas (Strand & Pech 1995, Lavine & Strand 2002, Carton et al. 2005), que fazem o reconhecimento e se ligam a moléculas presentes na superfície dos corpos estranhos, e consiste na ocorrência de uma resposta hemocítica primária, que se traduz na amplificação da população de hemócitos (Eslin et al. 1998, Yu et al. 2002). De facto, em muitas das combinações hospedeiro-parasitóide, ocorre um aumento inicial do número de hemócitos, logo após o parasitismo, que não se deve a danos mecânicos resultantes da oviposição (Guzo & Stoltz 1987, Alleyne & Wiedenmann 2001, Reed et al. 2007).

A outra condição é a presença, nos hospedeiros parasitados, de quantidade suficientemente grande de hemócitos para que a cápsula celular seja completada antes do ovo do parasitóide se proteger através do envolvimento pelos tecidos do hospedeiro. Uma vez que a concentração em hemócitos dos hospedeiros parasitados está parcialmente relacionada com a existente antes de ocorrer o parasitismo, as espécies de hospedeiros que possuem maior carga hemocítica estão mais predispostas a resistir aos parasitóides (Li & Christensen 1990, Eslin & Prevost 1996, Eslin et al. 1998, Kraaijeveld et al. 1998, Alleyne & Wiedenmann 2001). O êxito da reacção de defesa contra os ovos de endoparasitóides foi considerado relacionado, pelo menos em parte, com o número de hemócitos circulando na hemolinfa poucas horas após o parasitismo (Eslin & Prevost 1996, Bauer et al. 1998).

2.2. Controlo genético

As interações genéticas que ocorrem entre hospedeiros e parasitóides, em comunidades naturais, são provavelmente caracterizadas por modificações genéticas recíprocas dos hospedeiros pelos parasitóides e dos parasitóides pelos hospedeiros, isto é, por co-evolução (Carton & Nappi 1991). A co-evolução produz um intrincado balanço entre as respostas imunológicas do hospedeiro e as propriedades imuno-supressoras (ou imuno-invasivas) do parasitóide (Kraaijeveld et al. 1998, Zheng et al. 1999).

A existência de compromissos entre o aumento da resistência e outros componentes vitais da aptidão fisiológica (incluindo a susceptibilidade ao ataque por outros inimigos naturais) pode estar na base da variabilidade genética que se encontra na resistência de hospedeiros ao ataque por parasitóides (Kraaijeveld et al. 1998). Evidências indirectas para o custo da resposta imunológica são encontradas no compromisso entre o investimento nos aspectos fisiológicos vitais e o risco de parasitismo (Harvey et al. 1996, Siva-Jothy et al. 1998, Siva-Jothy 2000, Fellowes & Godfray 2000, Yourth et al. 2001, Koella & Boëte 2002). A natureza desses custos é desconhecida mas pode envolver os custos de produção e manutenção de uma elevada população de células hemocíticas. Estes custos podem resultar num redireccionamento dos recursos de outras funções tróficas e reprodutivas e desta forma reduzir a fecundidade ou aumentar outros factores de mortalidade (Godfray & Hassell 1993). A pressão evolutiva levará a um investimento dos recursos que contrabalance os benefícios e os custos da defesa imunitária (Fellowes et al. 1999, Koella & Boëte 2002).

Para compreender as consequências evolutivas do custo da imunidade, deve-se não só quantificar a associação fenotípica entre imunocompetência e êxito reprodutivo, como também a correlação genética entre os diferentes aspectos. Por exemplo, em mosquitos, a resposta de encapsulação e melanização, a idade em que pupam e o tamanho do corpo estão correlacionados geneticamente. Assim, a evolução deve encontrar um equilíbrio entre a vantagem de um crescimento mais lento (maior sobrevivência do adulto) e a sua desvantagem (maior tempo entre gerações) (Koella & Boëte 2002). Uma situação similar foi encontrada em *Drosophila melanogaster* Meigen, na qual a resposta imunológica contra a infecção por parasitóides está associada a baixa capacidade de competição nas larvas. Este custo previne a dispersão da resistência em áreas onde a prevalência da infecção é baixa, enquanto em áreas onde a prevalência é elevada o benefício da resistência ultrapassa o seu custo, de forma que o sistema imunológico evoluiu para encapsular os parasitóides de forma eficiente (Koella & Boëte 2002).

Algumas das melhores evidências experimentais da resposta de encapsulação do hospedeiro e das adaptações do parasitóide para a evitar surgiram de estudos sobre a

Drosophila spp. e seus parasitóides, onde se mostrou que a encapsulação estava sob controlo genético, podendo ser seleccionada em laboratório (Godfray & Hassell 1993).

Como referido anteriormente, existe variabilidade genética dentro da população de hospedeiros no que respeita à resistência aos parasitóides através da encapsulação (Kraaijeveld & van Alphen 1995, Kraaijeveld et al. 1998). As bases para as variações geográficas na resistência de hospedeiros a parasitóides são simples e possivelmente monogénicas (Kraaijeveld et al. 1998). Em *D. melanogaster*, a capacidade de encapsulação é controlada por um gene dominante (Dupas et al. 1998, Kraaijeveld et al. 1998). Benassi et al. (1998) concluíram que as diferenças na capacidade de encapsulação são herdadas autossomaticamente, com o fenótipo reactivo mostrando dominância completa sobre o não-reactivo. A hereditariedade não-autossomal (cromossomas sexuais, factores citoplásmicos e factores maternos transitórios) não estará envolvida. Os dados adequam-se assim a um modelo de hereditariedade de um só gene com dominância completa (Carton et al. 1997).

Por seu lado, as diferenças na virulência dos parasitóides são controladas por um só gene, com um efeito semi-dominante, estando também envolvidos genes menores (Dupas et al. 1998, Kraaijeveld et al. 1998).

Assim, a hipótese poligénica é recusada, demonstrando que o modelo gene-a-gene encontrado normalmente nas interacções planta-parasita, também, pode explicar as variações naturais nas interacções parasitóide-hospedeiro (Dupas et al. 1998). De acordo com o modelo gene-a-gene, para cada gene que confere virulência ao parasitóide, existe um gene correspondente no hospedeiro, que confere resistência ao hospedeiro, e vice-versa (Agrios 1997). Encontram-se várias referências a raças de parasitóide virulentas e avirulentas, no que respeita à encapsulação (Russo et al. 1996, Benassi et al. 1998, Kraaijeveld & Godfray 1999, Eslin & Prevost 2000, Poirie et al. 2000, Russo et al. 2001). De igual modo, também, está documentada a existência de raças de hospedeiros resistentes e susceptíveis (Green et al. 2000).

3. Factores que afectam a encapsulação nas cochonilhas

Nas cochonilhas (Hemiptera: Coccoidea) a encapsulação de parasitóides é conhecida em três famílias: Coccidae, Diaspididae e Pseudococcidae (**Fig. 5**). Os factores mais importantes que afectam a encapsulação, nestes insectos, incluem: a espécie do hospedeiro e do parasitóide, a idade e a condição fisiológica do hospedeiro, a origem ou ecótipo do hospedeiro e do parasitóide, o superparasitismo, a temperatura de criação ou ambiental e a planta hospedeira (Blumberg & DeBach 1981, Godfray & Hassell 1993, Blumberg 1997b, Blumberg & van Driesche 2001, Blumberg et al. 2001).

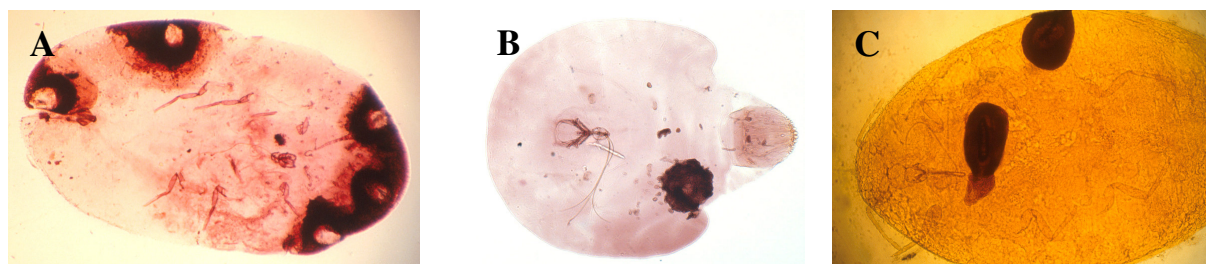


Fig. 5 - Encapsulação em: **A** - Coccidae; **B** - Diaspididae; **C** - Pseudococcidae (Blumberg 2003).

3.1. Relação parasitóide-hospedeiro

A incidência da encapsulação reflecte o nível de adaptabilidade hospedeiro-parasitóide, e acredita-se que baixas taxas de encapsulação são resultado de co-evolução do hospedeiro e seu parasitóide (Blumberg et al. 2001). Assim, as espécies do hospedeiro e do parasitóide são factores que afectam a frequência de encapsulação (Blumberg 1997b).

Dados relativos à encapsulação em Coccidae, Diaspididae e Pseudococcidae confirmam a importância da relação hospedeiro-parasitóide (Blumberg 1997b).

Os dados de encapsulação obtidos com as cochonilhas *Saissetia oleae* (Olivier) e *Saissetia coffeae* (Walker) mostram o seu diferente grau de adequabilidade para *Metaphycus* spp. *Saissetia oleae* foi a espécie mais apta ao desenvolvimento dos parasitóides estudados, uma vez que raramente ocorreu encapsulação dos ovos. A longa duração do desenvolvimento e a menor dimensão da progénie de *Metaphycus stanleyi* Compere são indicações de que *S. coffeae* é um hospedeiro pouco adequado, comparativamente a *S. oleae*, facto que parece dever-se a elevadas taxas de encapsulação e ao longo período requerido para os parasitóides emergirem de algumas cápsulas incompletas formadas pelo hospedeiro (Blumberg 1977).

Apesar do parasitóide *Metaphycus swirskii* Annecke & Mynhardt ser capaz de completar o seu desenvolvimento em qualquer das três espécies hospedeiras, *Protopulvinaria mangiferae* (Green), *Coccus capparidis* (Green) e *Protopulvinaria pyriformis* (Cockerell), diferentes taxas de mortalidade de parasitóides imaturos (encapsulação) foram observados nestes hospedeiros. A espécie *C. capparidis* demonstrou ser a mais adequada das três para o desenvolvimento bem sucedido do parasitóide pois apresenta a mais baixa taxa de encapsulação, 14%, quando comparada com mais de 50% nas outras duas espécies (Blumberg & Swirski 1984).

Blumberg et al. (1995) ao estudarem a resistência de quatro espécies de pseudococcídeos, *P. citri*, *Planococcus vovae* (Nasonov), *P. ficus* e *Pseudococcus cryptus* Hempel, ao parasitismo por *A. pseudococci* s.l. encontraram diferenças significativas na

incidência da encapsulação entre espécies. A relativamente alta taxa de encapsulação agregada dos ovos de *A. pseudococci* s.l. em *P. citri* e *P. vovae*, quando comparada com a de *P. cryptus* e *P. ficus*, indica possivelmente baixa adaptação fisiológica do parasitóide em relação aos dois primeiros hospedeiros (Blumberg et al. 1995).

A variação nas taxas de encapsulação, nas diferentes espécies de cochonilhas, cria diferentes níveis de aptidão do hospedeiro para o desenvolvimento dos parasitóides. Por exemplo, *P. citri* é um hospedeiro adequado para *L. dactylopii*, o que se reflecte na ausência de encapsulação. *Pseudococcus longispinus* (Targioni Tozzeti) é um hospedeiro razoável para *Leptomastix epona* Walker e *Anagyrus fusciventris* (Girault), uma vez que apenas é capaz de originar baixas taxas de encapsulação dos ovos destes parasitóides (Blumberg & van Driesche 2001).

Existem diferenças consideráveis na encapsulação quando os hospedeiros são parasitados por parasitóides principais ou por parasitóides acidentais. Tanto a encapsulação agregada, como a encapsulação efectiva são elevadas em combinações que incluem parasitóides acidentais, sendo baixas no caso de parasitóides principais (Blumberg et al. 2001). Por exemplo, foram observadas taxas nulas ou baixas (até 12%) de encapsulação efectiva por *P. citri*, *P. ficus* e *P. longispinus*, quando o parasitismo teve origem em parasitóides principais. O parasitismo de *P. citri*, *P. longispinus* e *P. viburni* por parasitóides acidentais caracterizou-se por altas taxas de encapsulação (86-100%), sugerindo que estas espécies de cochonilhas são inadequadas para o desenvolvimento destes parasitóides (Blumberg et al. 2001).

3.2. Idade fisiológica do hospedeiro

Os parasitóides podem efectuar a postura em instares jovens do hospedeiro, nos quais o sistema imunitário ainda não está desenvolvido (Harvey et al. 1996, Sagarra et al. 2000). O efeito da idade do hospedeiro, na incidência de encapsulação dos parasitóides, pode ser devido a inadequado(a): a) número de hemócitos disponíveis para encapsulação; b) concentração de enzimas necessárias para degradar a camada protectora do ovo; ou (c) concentração de factor(es) de reconhecimento (Blumberg 1977, 1997a,b).

A encapsulação dos parasitóides torna-se mais frequente à medida que o hospedeiro matura, concluindo-se que a imunidade do hospedeiro é, aparentemente, função da idade (Blumberg 1988, Blumberg & Goldberg 1992, Blumberg 1997a,b, Daane et al. 2004, Güleç et al 2007). A encapsulação por ninfas de cochonilhas é normalmente baixa. Pelo contrário, as fêmeas em postura são frequentemente capazes de encapsular todos os ovos do parasitóide. Tal indica que, apesar de um instar do hospedeiro ser considerado “intocável”

(isto é, não ser escolhido para oviposição) por um parasitóide, pode ser parasitado e resistir ao parasitismo através da encapsulação (Blumberg 1997a,b).

O aumento da capacidade de encapsulação com a idade fisiológica foi posto em evidência em *S. coffeae*, *S. oleae* e *Coccus hesperidum* L. quando parasitadas por *Metaphycus* spp. (Blumberg 1988), ocorrendo, também, noutras associações similares (Blumberg & DeBach 1981, Blumberg 1982, Sagarra & Vincent 1999). Assim, os ovos dos parasitóides *Metaphycus helvolus* (Compere) e *Metaphycus flavus* (Howard) foram totalmente encapsulados em fêmeas em pré-postura de *S. coffeae* e em fêmeas em postura de *C. hesperidum* (Blumberg 1997a,b).

A intensidade da resposta imunológica varia entre o 2º-3º instares e o estado adulto da cochonilha *Maconellicoccus hirsutus* Green, quando parasitada por *Anagyrus kamali* Moursi. Após 30 horas, o maior nível de encapsulação observou-se em adultos, nos quais 58% dos ovos foram encapsulados, seguido pelo 3º (32%) e 2º (4%) instares. Três dias após a oviposição, 23%, 44% e 86% dos ovos do parasitóide postos, respectivamente, em adultos, 3º e 2º instares não estavam encapsulados. Os adultos de *M. hirsutus* demoraram 30 horas a encapsular pelo menos 50% dos ovos (Sagarra et al. 2000).

Os resultados obtidos em *P. ficus* quando parasitada por *A. pseudococci* s.l., também, demonstram que a idade do hospedeiro afecta a taxa de encapsulação, sendo que neste caso a taxa de encapsulação efectiva foi de 70% em cochonilhas com 12 dias e de 59% em cochonilhas com 18 dias de idade (Çalisir et al 2005).

No entanto, também, existem casos nos quais a encapsulação não é afectada pela idade do hospedeiro. É o que se verifica quando *Habrolepis rouxi* (Compere) parasita a cochonilha *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Blumberg 1988).

3.3. Condição fisiológica do hospedeiro

Numa dada combinação hospedeiro-parasitóide, o vigor e a saúde do hospedeiro encontram-se entre os vários factores que afectam a encapsulação (Blumberg 1990, 1997a,b).

O parasitismo num hospedeiro enfraquecido e doente pode, por vezes, manifestar-se na incapacidade do hospedeiro formar uma cápsula completa à volta do ovo do parasitóide, tornando-se a encapsulação um mecanismo ineficaz de defesa do hospedeiro (Blumberg 1990, **Fig. 6**).

Diferentes tratamentos baseados no enfraquecimento intencional das cochonilhas, como a exposição do hospedeiro a temperaturas extremas antes do parasitismo, reduzem significativamente a capacidade de encapsulação do hospedeiro, através de um mecanismo desconhecido (Blumberg 1976, Blumberg & DeBach 1981, Blumberg 1990, 1997a,b). A

remoção das cochonilhas, da planta hospedeira, por as enfraquecer, pode igualmente reduzir a encapsulação (Blumberg 1982).

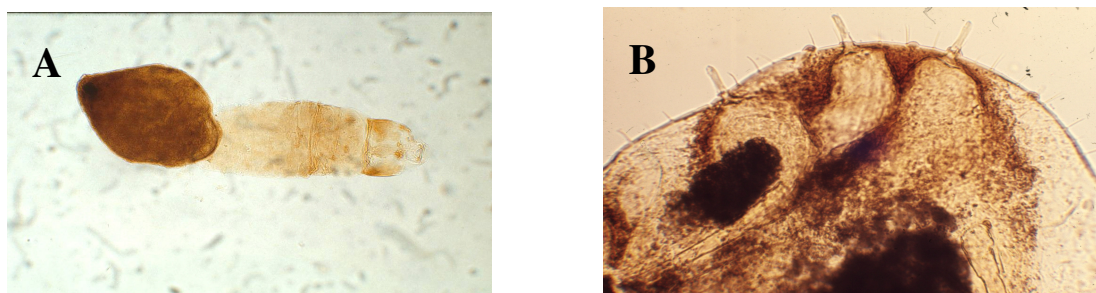


Figura 6 - A - Larva de parasitóide em desenvolvimento, após ter escapado de uma cápsula incompleta;
B - Cápsulas incompletas das quais os parasitóides conseguiram escapar, sobrevivendo à encapsulação (Blumberg 2003).

3.4. Origem do hospedeiro e do parasitóide

Diferentes raças geográficas, ou ecótipos, de um hospedeiro podem reagir de forma diferente a um parasitóide, assim como um hospedeiro pode reagir de forma diferente a diferentes raças do mesmo parasitóide. Diferenças na capacidade de encapsulação do hospedeiro podem apoiar a existência de ecótipos, aos quais o parasitóide está diferentemente adaptado (Blumberg 1997a,b).

As taxas de encapsulação podem ser marcadamente afectadas pelos ecótipos do hospedeiro e do parasitóide. No caso do parasitóide *A. pseudococci* s.l. da cochonilha-algodão dos citrinos, *P. citri*, Blumberg et al. (2001) ao estudarem a encapsulação em combinações de três ecótipos alopátridos do parasitóide e da cochonilha (Portugal, Itália e Israel) registaram diferentes taxas de encapsulação efectiva, resultado, possivelmente, de diferente ambiente de co-evolução hospedeiro-parasitóide.

3.5. Superparasitismo

À medida que o número de ovos de parasitóide por hospedeiro aumenta, as reacções de encapsulação decrescem em intensidade e incidência, facto que se atribui ao enfraquecimento do hospedeiro por parasitismo excessivo, o que diminui a sua aptidão para produzir uma reacção completa (Blumberg & DeBach 1981, Sagarra et al. 2000). O superparasitismo tem sido considerado um dos mecanismos através do qual os parasitóides rodeiam o sistema de defesa do hospedeiro (Blumberg 1997a,b, revisão por Dorn & Beckage 2007), podendo ser uma adaptação a elevadas taxas de encapsulação

encontradas em ovos solitários de parasitóides (Blumberg & Goldberg 1992, Blumberg 1997a) ou o resultado do ataque de parasitóides a hospedeiros inadequados (Blumberg et al. 2001).

Como a encapsulação num hospedeiro superparasitado pode não afectar todos os ovos do parasitóide, um ou mais ovos podem, assim, evitar a reacção e desenvolver-se normalmente (Blumberg 1997b, Sagarra et al. 2000). O superparasitismo, ao favorecer o parasitóide em detrimento do hospedeiro, reduz a eficiência da encapsulação como mecanismo de resistência do hospedeiro, apesar de, também, baixar o potencial da taxa de natalidade do parasitóide (Blumberg & DeBach 1981, Blumberg & Goldberg 1992, Blumberg 1997b, Sagarra et al. 2000, Blumberg et al. 2001, Tena et al. 2008).

Os múltiplos ovos do parasitóide *Comperiella bifasciata* (Howard), postos por hospedeiro, têm menos probabilidade de serem totalmente encapsulados em *A. aurantii* do que ovos solitários (Blumberg & Luck 1990, Blumberg 1997b). A taxa de encapsulação agregada dos ovos de *Epidinocarsis lopezi* (De Santis) por *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero foi de 26,7%, no caso de ovos solitários, aumentando significativamente (83,3%) em situação de superparasitismo. Apesar do nível de encapsulação aumentar com o grau de superparasitismo, existem sempre parasitóides que conseguem escapar à encapsulação, uma vez que a taxa de encapsulação efectiva no caso de superparasitismo é muito baixa (Giordanengo & Nénon 1990).

A maioria dos parasitóides encirtídeos de cochonilhas são parasitóides solitários. Contudo, apesar de apenas um indivíduo se desenvolver por hospedeiro, o superparasitismo é bastante comum (Blumberg et al. 2001). Aumentar o número de ovos postos por hospedeiro num hospedeiro inapropriado pode ser encarado como estratégia comum dos parasitóides para reduzir as taxas de encapsulação efectiva em cochonilhas. Por exemplo, diferenças marcadas nas taxas de encapsulação efectiva entre cochonilhas parasitadas com um só ovo (76,6%) e superparasitadas (18,8%) foram evidentes na associação *P. citri* e *A. pseudococci* s.l. Algumas espécies, como é o caso de *A. fusciventris* e *L. dactylopii*, alteram o padrão distribuição dos ovos por hospedeiro, passando de um padrão com taxa de superparasitismo nula ou muito baixa, como parasitóides principais, para um padrão com superparasitismo, como parasitóides acidentais. Este comportamento pode evoluir quando uma nova espécie de hospedeiro é adoptada (Blumberg et al. 2001).

3.6. Temperatura

As condições ambientais, sob as quais o hospedeiro e o parasitóide interagem, podem afectar a incidência, o vigor e o êxito da reacção defensiva do hospedeiro (Blumberg 1997b, Blumberg 1991a).

A encapsulação dependente da temperatura pode indicar que durante a Primavera e Verão, quando as temperaturas no campo são elevadas, particularmente, se elas prevalecerem imediatamente após a oviposição do parasitóide, a capacidade de encapsulação do hospedeiro aumenta. Assim, a aptidão de um dado hospedeiro para o seu parasitóide habitual é afectada adversamente, como resultado da habilidade crescente do hospedeiro para prevenir o êxito do parasitismo (exs. Blumberg & DeBach 1981, Blumberg 1990, 1991a).

Por exemplo, a taxa de encapsulação dos ovos de *M. stanleyi* por *P. pyriformis* é baixa no Inverno (0-11%) e relativamente elevada no Verão (51-57%) (Blumberg 1991b). As elevadas taxas de encapsulação dos ovos deste parasitóide durante o Verão e início do Outono constituem, sem dúvida, um obstáculo à reprodução e acréscimo da população do parasitóide, nessa altura do ano (Blumberg 1991a).

A taxa de encapsulação de ovos e larvas do parasitóide *E. lopezi* pelo seu hospedeiro *P. manihoti* foi favorecida por elevadas temperaturas, com máximo (37,7%) a 28°C (Nénon et al. 1988). A temperatura, também, influencia a encapsulação do parasitóide *Epidinocarsis diversicornis* Howard pelo seu hospedeiro *Phenacoccus herreni* Cox & Williams (Herrera & Bellotti 1986).

Nas três combinações parasitóide-hospedeiro, *M. stanleyi* em *C. hesperidum*, *M. swirskii* em *S. oleae* e *M. swirskii* em *S. coffeae*, verificou-se um aumento significativo na capacidade de encapsulação do hospedeiro quando a temperatura ambiente aumentou de 27-28°C para 32-33°C (Blumberg 1991a). A temperatura teve efeito idêntico na encapsulação do parasitóide *Encyrtus lecaniorum* (Mayr) pela cochonilha *C. hesperidum* (Blumberg & Goldberg 1992).

A percentagem de ovos encapsulados por *S. coffeae* foi significativamente menor a 16°C, quando comparada com 20°C, 24°C, 28°C e 32°C. A 32°C, 99,5% a 100% dos ovos de *M. swirskii* foram encapsulados por *S. coffeae*, independentemente da idade do hospedeiro (Blumberg 1988).

Quando o parasitismo e o crescimento decorreram à mesma temperatura, a percentagem de ovos de *M. helvolus* encapsulados aumentou de 48,7% a 27°C para 94,1% a 33°C, em *C. hesperidum*. A temperatura relativamente baixa, a encapsulação pelas ninfas da cochonilha foi elevada mas não afectou todos os ovos. Contudo, a 33°C até as ninfas foram capazes de encapsular todos os ovos de *M. helvolus* (Blumberg & DeBach 1981).

As temperaturas extremas reduzem a incidência da encapsulação dos ovos de parasitóide, sendo maior o efeito no caso de temperaturas elevadas, comparativamente com baixas (Blumberg 1976). O tratamento melhor para reduzir a encapsulação foi sujeitar as cochonilhas a uma temperatura de 40°C, durante 24 horas, antes da exposição ao parasitóide (Blumberg 1976, 1982, Blumberg & Goldberg 1992).

3.7. Planta hospedeira

A interacção entre os três níveis tróficos, planta hospedeira, insecto herbívoro e inimigo natural, pode afectar a imunidade das pragas aos seus inimigos naturais. Tal interacção pode explicar o efeito único das plantas hospedeiras nas relações parasitóide-hospedeiro. Por este motivo, a eficácia dos parasitóides pode, por vezes, ser determinada pelo grau de imunidade conferido pela planta hospedeira ao insecto hospedeiro (Blumberg 1997a,b). Os efeitos da planta hospedeira nas interacções entre insectos herbívoros e seus inimigos naturais e os aspectos ecológicos da resistência da planta hospedeira e a protecção biológica foram revistos por Price (1986).

Estudos sobre a influência da planta hospedeira de *P. manihoti* no encirtídeo *Apoanagyrus lopezi* De Santis mostraram que a taxa de encapsulação é significativamente menor quando o pseudococcídeo é criado em *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd. do que em mandioca (cultivar Incoza e Zanaga) e *M. esculenta* x *M. glaziovii* (Souissi & LeRu 1998).

As diferenças registadas nas taxas de encapsulação dos ovos de *M. stanleyi* por cochonilhas infestando diferentes plantas hospedeiras ilustram o efeito destas no nível de resistência ao parasitismo. *Protopulvinaria pyrifomis* foi capaz de prevenir o parasitismo por *M. stanleyi* mais eficientemente quando em *Hedera helix* L. ou *Schefflera arboricola* (Hayata) Merr., do que em abacateiro (Blumberg 1991a, 1997b).

C. hesperidum mostrou ser mais resistente ao parasitóide *M. stanleyi*, em citrinos, do que em bananeira, e a *M. flavus*, em loendro, do que em abóbora (Blumberg 1997b). Por seu lado, a *Ceroplastes floridensis* Comstock é muito mais resistente ao parasitóide *Tetrastichus ceroplastae* (Girault), em folhas enraizadas de lima doce, do que em folhas de *H. helix* (Blumberg 1991a, 1997b).

4. Importância da encapsulação na protecção biológica

Os parasitóides, devido à capacidade de provocarem elevada mortalidade nos hospedeiros, são frequentemente utilizados em protecção biológica (Mills & Getz 1996, Murdoch & Briggs 1996). A necessidade de melhorar a protecção biológica conduziu a intensa investigação sobre dinâmica populacional dos parasitóides e ao estudo do seu comportamento, inicialmente focado nos mecanismos de procura e aceitação do hospedeiro e, depois, na evolução das estratégias reprodutivas (King 1987, van Alphen & Jervis 1995, Kraaijeveld et al. 1998).

A encapsulação pode afectar adversamente a protecção biológica efectuada por parasitóides importados contra hospedeiros indígenas, ao reduzir a sua eficácia e, desta forma, retardar ou impedir, de acordo com o grau de encapsulação, o seu estabelecimento

em novas regiões e aumentar a frequência de pululações de pragas (Blumberg 1976, 1977, Blumberg & Goldberg 1992, Blumberg 1997a,b, Blumberg et al. 2001). Estudos laboratoriais relativos à capacidade do hospedeiro impedir o desenvolvimento dos parasitóides, através da encapsulação, podem ser valiosos para a avaliação do potencial do parasitóide no campo e/ou explicar falhas no estabelecimento de parasitóides exóticos (Blumberg 1997b).

A intensidade da reacção defensiva do hospedeiro pode alterar-se com o tempo. Durante a selecção natural, um parasitóide pode perder a sua eficiência devido ao desenvolvimento de resistência imunológica pelo hospedeiro. Por outro lado, evitando a reacção de defesa do hospedeiro, o parasitóide pode gradualmente adaptar-se a este (Blumberg 1976, 1997a,b). Variações na frequência de encapsulação, baseadas em diferenças genéticas, estão documentadas em diversas espécies. Diferentes graus de susceptibilidade à encapsulação, em espécies de parasitóides que atacam o mesmo hospedeiro, podem conferir vantagem ao parasitóide mais resistente e, desta forma, aumentar as suas hipóteses de sobrevivência (Blumberg 1997a,b).

Ao compreender a encapsulação, torna-se possível efectuar melhores predições acerca da gama de hospedeiros dos parasitóides, antes da sua utilização como agentes de protecção biológica (Alleyne & Wiedenmann 2001).

Como referido anteriormente, os ecótipos do hospedeiro podem reagir de forma diferente ao mesmo parasitóide, assim como o mesmo hospedeiro pode reagir de forma diferente a diversos ecótipos do parasitóide (Blumberg 1997a,b). A escolha inadequada do ecótipo do parasitóide, a utilizar em programas de protecção biológica, pode levar ao não estabelecimento do parasitóide, por causa de elevada incidência de encapsulação (Blumberg et al. 2001). Por isso, é tão importante a investigação da compatibilidade entre ecótipos do hospedeiro e seus parasitóides no desenvolvimento de programas de protecção biológica (Blumberg 1997a,b).

A ocorrência de superparasitismo reduz a eficiência da encapsulação como mecanismo de resistência do hospedeiro. Por conseguinte, quando se avalia o efeito da encapsulação na eficácia de um parasitóide gregário, deve ter-se em consideração o número de hospedeiros parasitados nos quais a encapsulação previne completamente o desenvolvimento do parasita, preferivelmente ao número agregado de parasitóides encapsulados (Blumberg 1990).

A incidência de encapsulação dos ovos de parasitóides pelo hospedeiro é considerada um parâmetro importante da susceptibilidade do hospedeiro que pode afectar a eficácia de um parasitóide. No laboratório, elevados níveis de encapsulação podem causar dificuldades nos programas de criação em massa de parasitóides (Blumberg 1976, 1977, 1982, Blumberg & Goldberg 1992, Blumberg et al. 1995, Blumberg 1997a,b, Blumberg & van Driesche 2001, Blumberg et al. 2001).

Antes da libertação no campo de novos parasitóides, poderá ser benéfico efectuar a criação da espécie do parasitóide na praga alvo. Contudo, este benefício poderá ser transitório (Alleyne & Wiedenmann 2002). Por outro lado, ao lidar com um parasitóide polífago importado, poderá ser mais fácil estabelecer uma cultura de laboratório num hospedeiro alternativo em vez do hospedeiro alvo. Todavia, será preciso ter em conta que apesar de ser aceite pelo parasitóide para a oviposição, o hospedeiro alternativo poderá ser inadequado para o desenvolvimento do parasitóide, devido a elevada incidência de encapsulação (Blumberg 1990).

As taxas de encapsulação variam consideravelmente durante diferentes estações do ano e estão correlacionadas com a temperatura ambiente. Estas descobertas têm implicações potenciais nos efeitos da protecção biológica e na resistência do parasitóide à encapsulação pelo hospedeiro (Blumberg 1991a). Um exemplo de redução de eficácia de um parasitóide sob condições de estufa e de campo é o aumento das taxas de encapsulação (até 100%) dos ovos do parasitóide *M. stanleyi* por *P. pyrifomis* durante o Verão. Isto constitui obstáculo à reprodução e acréscimo da população do parasitóide nessa altura do ano e faz com que este parasitóide seja incapaz de prevenir pululações da praga, no Outono e Inverno (Blumberg 1991a, 1997b). Um meio possível para melhorar o combate à praga é recorrer ao aumento das populações deste parasitóide, através de largadas inoculativas, no Outono, quando as temperaturas já não induzem elevadas taxas de encapsulação (Blumberg 1997b).

As condições ambientais, sob as quais o insecto hospedeiro e o parasitóide interagem, podem afectar a incidência, o vigor e o êxito da reacção defensiva do hospedeiro (Blumberg 1991a). As temperaturas extremas reduzem a encapsulação de ovos do parasitóide pelos hospedeiros, resultando numa melhorada criação em massa do inimigo natural (Blumberg 1976, 1982). O melhor tratamento para cochonilhas será a exposição das mesmas a 40°C, durante 24 horas antes da exposição aos parasitóides, o que resulta na perda da maioria da sua capacidade de encapsulação (Blumberg 1976, Blumberg & Goldberg 1992). Assim, o enfraquecimento intencional, por exposição a temperaturas extremas, antes da parasitização, conduz a redução considerável da incidência de encapsulação e, consequentemente, a criação em massa do parasitóide será melhorada (Blumberg 1990).

Outra forma artificial de reduzir e prevenir a reacção hemocítica de vários insectos hospedeiros é a alteração da composição da dieta, utilização de químicos seleccionados (por exemplo, alguns intermediários reactivos de oxigénio) ou através da fome (Blumberg 1976, 1990).

O êxito da protecção biológica, no que concerne à encapsulação de parasitóides, depende, tal como referido, não só das espécies ou ecótipos de hospedeiro e parasitóide,

como também das condições de criação e ambientais, incluindo a planta hospedeira na qual o hospedeiro e o parasitóide interagem (Blumberg 1997b).

Estender o conhecimento existente relativo aos mecanismos de encapsulação, juntamente com a possibilidade de redução intencional da incidência da encapsulação sob condições laboratoriais, poderá ajudar na descoberta de soluções práticas para o problema da encapsulação, o que, por sua vez, poderá contribuir para melhorar a protecção biológica contra pragas em ecossistemas agrários (Blumberg 1989, 1997b).

5. Resistência à encapsulação

5.1. Tipos de resistência

O sistema imunológico dos insectos serve como defesa-chave contra o ataque efectuado pelos parasitóides. Os hospedeiros incompatíveis eliminam frequentemente os parasitóides através da encapsulação (Strand & Pech 1995). Apenas um pequeno número de espécies ou raças de parasitóides não induzem a reacção imunitária (encapsulação) num dado hospedeiro e, desta forma, são capazes de completar com êxito o seu desenvolvimento. Tal deve-se a adaptações específicas e numerosos mecanismos que estas espécies, denominadas habituais ou adaptadas ao hospedeiro, desenvolveram, o que lhes permite evitar a encapsulação (Blumberg 1990, 1997a,b). Assim, a supressão ou evasão à resposta imunitária do hospedeiro é essencial para a sobrevivência dos endoparasitóides (Webb & Luckhart 1996, Sagarra et al. 2000).

Os endoparasitóides podem evitar, passiva ou activamente, as defesas do hospedeiro. As **estratégias passivas** incluem: o desenvolvimento em tecidos inacessíveis aos hemócitos; o ataque a instares do hospedeiro que não possuem hemócitos circulantes; o mimetismo molecular, que evita o reconhecimento como organismo estranho, uma vez que a superfície dos ovos de alguns parasitóides é revestida por moléculas que mimetizam a membrana basal dos insectos, não desencadeando, por isso, a resposta imunológica (Godfray & Hassell 1993, Kraaijeveld et al. 1998). As **estratégias activas** englobam: a injeção pelas fêmeas dos parasitóides de toxinas e outras substâncias que, temporária ou permanentemente, suprimem o sistema imunitário do hospedeiro (Kraaijeveld et al. 1998); os polidnavírus, associados a certos grupos de parasitóides, que impedem a formação da cápsula (Strand & Pech 1995); a segregação, pela larva do parasitóide, ou pelas membranas embrionárias (por exemplo, através de teratócitos), de compostos químicos que atacam o sistema imunitário do hospedeiro (Kraaijeveld et al. 1998).

5.1.1. Desenvolvimento em locais inacessíveis aos hemócitos

As espécies que recorrem à localização dos ovos em locais inacessíveis aos hemócitos circulantes do hospedeiro, como estratégia de evasão, não têm nenhum impacto negativo nas defesas celulares do hospedeiro (Rizki et al. 1990, Kraaijeveld & van Alphen 1994, Strand & Pech 1995, Jervis & Copland 1996, Kraaijeveld et al. 2001, Moreau et al. 2003). Por exemplo, em *D. melanogaster*, os ovos do parasitóide *Asobara tabida* Nees e de algumas raças de *Leptopilina boulardi* Barbotin et al. conseguem evitar a encapsulação por se encontrarem envolvidos pelos tecidos (por exemplo, tubo digestivo, corpo adiposo, traqueias, cérebro) do seu hospedeiro larvar (Monconduit & Prevost 1994, Eslin et al. 1996, Kraaijeveld et al. 1998), em locais que os hemócitos não conseguem atingir facilmente. A camada exterior dos ovos de *A. tabida* consiste num exocórrion fibroso e viscoso, com propriedades adesivas aos tecidos do hospedeiro. Assim, após a oviposição, as membranas que circundam os tecidos do hospedeiro aderem ao exocórrion do ovo do parasitóide, permanecendo, apenas, algumas áreas limitadas da superfície do ovo expostas ao ataque dos hemócitos (Kraaijeveld & van Alphen 1994, Eslin & Prevost 1996, Eslin et al. 1996). Tal poderá conduzir, no máximo, à encapsulação parcial do ovo. No entanto, as larvas do parasitóide podem escapar de cápsulas incompletas (Rizki et al. 1990, Kraaijeveld & van Alphen 1994; **Fig. 5A**). Esta adesão dos ovos dos parasitóides aos tecidos do hospedeiro provavelmente contribui para a sua protecção em relação à encapsulação, durante a embriogénese (Eslin et al. 1996).

No entanto, este sistema tem custos para o parasitóide. A duração do estado de ovo é superior em ovos embebidos nos tecidos do hospedeiro, provavelmente por causa da diminuição de nutrientes e/ou fornecimento de oxigénio a esses tecidos. Este atraso na eclosão reduz a probabilidade de sobrevivência do parasitóide se outro ovo de parasitóide é depositado no mesmo hospedeiro, ou seja, em situação de superparasitismo ou multiparasitismo (Kraaijeveld et al. 2001).

5.1.2. Oviposição em instares jovens e superparasitismo

Os instares jovens (por exemplo, primeiros e segundos instares) de alguns hospedeiros são incapazes de produzir uma reacção expressiva de defesa imunitária, por encapsulação, o que poderá ser explicado pela pequena quantidade de hemolinfa, células da hemolinfa e pela menor proporção de hemócitos disponíveis no hospedeiro (Sagarra et al. 2000). O crescente aumento da intensidade da reacção hemocítica em instares mais avançados deve ser atribuído a maior número de hemócitos disponíveis para a reacção. As fêmeas adultas mostraram o mais elevado nível de encapsulação, devido ao facto do seu sistema imunitário

estar completamente desenvolvido (Sagarra et al. 2000). Assim sendo, a vantagem de um ataque mais precoce é permitir à progénie do parasitóide ser aceite pelas células da hemolinfa do hospedeiro, antes de reacções de defesa vigorosas serem possíveis (Blumberg 1977, 1997a,b). Esta estratégia é utilizada por numerosas espécies de parasitóides, variando o instar atacado (Sagarra et al. 2000). Contudo, a proporção sexual da progénie dos parasitóides encirtídeos (*Anagyrus* spp.) proveniente de primeiros e segundos instares do hospedeiro consiste principalmente em machos, devido à insuficiente reserva de nutrientes requerida para o desenvolvimento das fêmeas (a progénie feminina é raramente obtida a partir de segundos instares parasitados). Por conseguinte, parasitar apenas esses instares de forma a ultrapassar a encapsulação não é uma estratégia evolucionária segura, uma vez que irá levar à extinção da espécie (Sagarra et al. 2000).

O superparasitismo pode aumentar as probabilidades de sobrevivência da progénie do parasitóide. A probabilidade de, pelo menos, um ovo sobreviver à encapsulação, em endoparasitóides solitários, é maior quando o hospedeiro contém vários ovos, uma vez que podem exaurir a resposta imunocelular do hospedeiro. Algumas horas após a oviposição, a percentagem de encapsulação estabiliza, indicando saturação do sistema imunitário do hospedeiro *M. hirsutus*. É frequente encontrar hospedeiros adultos superparasitados (**Fig. 7**, as setas indicam os ovos de parasitóide), uma vez que este estado apresenta elevada capacidade de encapsulação. Pelo contrário, é raro encontrar hospedeiros jovens (primeiro e segundo instares) superparasitados (Sagarra et al. 2000). Níveis elevados de superparasitismo (isto é, 11 a 14 ovos por hospedeiro) conduzem à supressão da encapsulação. Esta estratégia para ultrapassar o sistema imunitário do hospedeiro é designada por **hipótese do alvo múltiplo** ("Multiple Target Hypothesis", Sagarra et al. 2000).

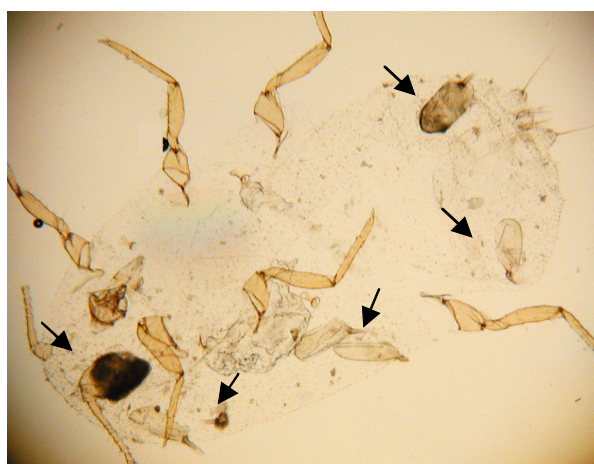


Fig. 7 - Fêmea adulta de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) superparasitada por *Anagyrus pseudococci* (Girault) *sensu latum* (Hymenoptera: Encyrtidae), 24 horas após o parasitismo (original da autora).

Alguns parasitóides são capazes de ultrapassar a encapsulação dos seus ovos pela combinação de duas estratégias: 1) evitar a resposta imunitária do hospedeiro, ao efectuar a postura em hospedeiros jovens; 2) saturar a resposta do sistema imunitário dos hospedeiros mais velhos, através do superparasitismo (por exemplo, estratégias empregues por alguns parasitóides de cochonilhas-algodão).

As fêmeas de parasitóides podem maximizar a sua progénie seleccionando o hospedeiro de forma preferencial para ovos de fêmeas e de machos. Os ovos de machos podem ser colocados em hospedeiros pequenos, sendo a progénie feminina maximizada depositando os ovos em terceiros instares e fêmeas jovens do hospedeiro. No entanto, devido à encapsulação, esses hospedeiros têm de ser superparasitados de forma a assegurar o completo desenvolvimento da sua descendência e maximizar o seu potencial biótico. A oviposição em terceiros instares deve ser a estratégia evolucionária mais segura, uma vez que assegura o desenvolvimento da progénie e a produção de numerosas fêmeas. Isto permite ao parasitóide colocar menos ovos por hospedeiro para saturar a resposta imunitária e possibilitar o desenvolvimento de um dos ovos. A oviposição neste instar é vantajosa, quando comparada com o estado adulto. Esta adaptação de comportamento sugere que alguns parasitóides podem ter desenvolvido, através de co-evolução com o hospedeiro, uma estratégia para contrariar as defesas do hospedeiro e melhorar a taxa de sobrevivência da progénie (Sagarra et al. 2000).

5.1.3. Mimetismo molecular

A relação hospedeiro-parasitóide é baseada em subtis acções recíprocas entre as estratégias de sobrevivência do parasitóide e os mecanismos de defesa do hospedeiro. Neste contexto, os parasitóides frequentemente usam as mesmas moléculas ou moléculas similares de imunossinalização e/ou mimetismo molecular para escapar à imunovigilância do hospedeiro. Ambos os processos representam uma estratégia adaptativa para assegurar a imunocompatibilidade do hospedeiro (Salzet et al. 2000).

A descoberta de antígenos em parasitóides levou ao conceito de mimetismo molecular, isto é, a expressão pelos parasitóides de proteínas pertencentes ao hospedeiro. Existe uma grande diversidade de estruturas envolvidas neste mimetismo, estruturas essas que evitam a detecção imunológica pelo hospedeiro parasitado (Salzet et al. 2000).

Em algumas espécies de endoparasitóides, como *Macrocentrus cingulum* Brische, *Campoletis sonorensis* (Cameron) (parasitóides larvares) e *Copidosoma floridanum* (Ashmead) (parasitóide oófago), a superfície dos ovos é revestida por uma fina camada fibrosa, composta por moléculas que mimetizam as membranas basais dos insectos, não

desencadeando a resposta imunológica por parte dos hospedeiros (Davies & Vinson 1986, Corley & Strand 2003, Hu et al. 2003, Lu et al. 2007, Hu et al. 2008).

5.1.4. Injeção de vírus e substâncias diversas

As fêmeas de muitas espécies de parasitóides himenópteros pertencentes às famílias Braconidae e Ichneumonidae produzem partículas virais em células epiteliais especializadas dos seus órgãos reprodutivos que são essenciais para o êxito do parasitismo (Lavine & Beckage 1995, Beckage 1998, Yin et al. 2001, Amaya et al. 2005, Morales et al. 2005, Schmidt et al. 2005, Suzuki & Tanaka 2006, Lee et al. 2008, Nalini et al. 2008). Durante a oviposição, estas partículas são injectadas no hospedeiro, juntamente com os ovos, protegendo da encapsulação pelo hospedeiro os ovos e as larvas dos parasitóides, quer “mascarando” os parasitóides, quer por supressão directa do sistema de defesa do hospedeiro (Federici 1991, Blumberg 1997a,b). As propriedades físicas e bioquímicas dessas partículas assemelham-se a vírus e, nessa base, uma nova família - Polydnaviridae - foi criada para acomodar as partículas virais destes parasitóides (Federici 1991).

A característica mais relevante que distingue os polidnavírus de outros vírus é o facto de possuírem um genoma segmentado, de múltiplas cadeias duplas de ADN, circulares e fechadas (Summers & Dib-Hhajj 1995, Yin et al. 2001). Estas partículas virais exibem uma relação genética complexa e íntima com o parasitóide, sendo únicas entre os simbiossiontes virais, porque as sequências de ADN viral são integradas de forma estável nos genomas dos endoparasitóides que os albergam (Lavine & Beckage 1995, Summers & Dib-Hhajj 1995, Beckage 1998, Kraaijeveld et al. 1998, Wyler & Lanzrein 2003). Estes simbiossiontes desempenharam provavelmente um papel crítico na evolução da gama de hospedeiros e na definição da compatibilidade parasitóide-hospedeiro (Strand & Pech 1995).

Os polidnavírus possuem capacidade genética de expressar amplo número de famílias de genes que constituem a maior fonte de variabilidade genética, tendo o potencial de gerar rapidamente diversidade para abranger as mudanças adaptativas nas defesas imunitárias do hospedeiro, de forma a beneficiar a estratégia de sobrevivência dos parasitóides (Summers & Dib-Hhajj 1995).

A replicação de polidnavírus ocorre apenas nas células epiteliais do cálice do ovário das fêmeas dos parasitóides, antes da oviposição (Kraaijeveld et al. 1998, Yin et al. 2001, Wyler & Lanzrein 2003, **Fig. 8**). As moléculas de ADN amplificadas são empacotadas e segregadas num processo complexo de maturação viral, que também providencia um complexo envelope viral duplo. Os envelopes virais, os quais são derivados das membranas celulares, podem mediar interacções entre os endoparasitóides e as células do hospedeiro (Summers & Dib-Hhajj 1995). Os determinantes antigénicos destas partículas viróides são

similares a proteínas componentes do hospedeiro (Fedderson et al. 1986, Berg et al. 1988, Schmidt et al. 1990, Asgari et al. 1997, Mochiah et al. 2002). A estratégia de “escudo” desenvolvida por essas partículas parece criar uma “máscara” de antígenos similares aos do hospedeiro, dissimulando os ovos dos parasitóides (Lavine & Beckage 1995, Beckage 1998).

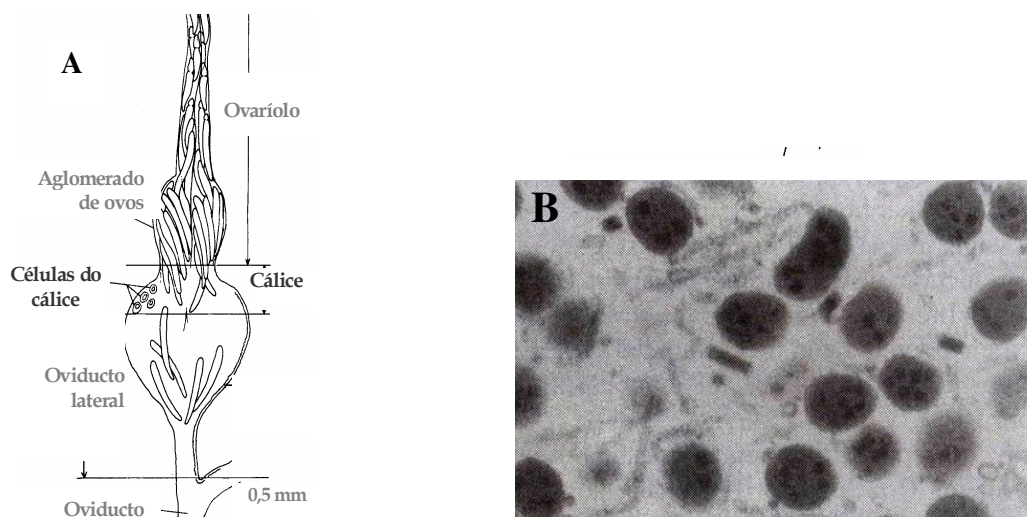


Fig. 8 - As fêmeas da família Braconidae albergam partículas virais nos tractos reprodutivos (nas células do cálice) (Blumberg 2003):

- A** - Esquema simplificado do ovário das fêmeas desta família;
B - Partículas de polidnavírus presentes no cálice do ovário.

A replicação de polidnavírus é contínua e os viriões são armazenados no tracto reprodutivo das fêmeas juntamente com os ovos e o fluído do cálice. O fluído do cálice contém proteínas segregadas pelas células epiteliais que revestem o ovário, assim como substâncias produzidas pela glândula de veneno. Algumas dessas proteínas são fisiologicamente importantes para o êxito do parasitismo, protegendo os ovos do sistema imunitário do hospedeiro e suprimindo a encapsulação do parasitóide (Summers & Dib-Hajj 1995, Webb & Luckhart 1994, 1996, Asgari et al. 1998, Beckage 1998, Qin et al. 2001, Parkinson et al. 2002, Kadash et al. 2003, Labrosse et al. 2003, Parkinson et al. 2003, Yin et al. 2003, Namba et al. 2008).

Quando os polidnavírus são transferidos para o hospedeiro, durante a oviposição, vão provocar um efeito arrasador no sistema imunitário do hospedeiro. Estes vírus destroem os hemócitos normalmente envolvidos na encapsulação ou, pelo menos, alteram o seu comportamento, de tal modo que mudam de forma e falham a dispersão e a aderência a um substrato, inutilizando-os e prevenindo assim a encapsulação dos ovos de parasitóides (Davies & Vinson 1988, Prevost et al. 1990, Strand & Noda 1991, Doucet & Cusson 1996, Beckage 1998, Stettler et al. 1998, Kadash et al. 2003, Moreau et al. 2003). Em algumas espécies, os hemócitos são afectados durante o parasitismo (por exemplo, Guzo & Stoltz

1987), enquanto noutras os efeitos são mais transitórios e os hemócitos recuperam (por exemplo, Lavine & Beckage 1995, Webb & Luckhart 1996, Beckage 1998, Yin et al. 2003).

Em adição à obstrução da função imunitária do hospedeiro, os polidnavírus podem também induzir atrasos no desenvolvimento, supressão da alimentação e crescimento, inibição da actividade da fenoloxidase e anomalias de pigmentação (Guzo & Stoltz 1987, Strand & Noda 1991, Doucet & Cusson 1996, Beckage 1998, Yin et al. 2001, Johner & Lanzrein 2002, Kadash et al. 2003, Marti et al. 2003, Moreau et al. 2003). As manifestações biológicas e bioquímicas do vírus são bastante complexas e variam significativamente de acordo com as espécies de endoparasitóides e de hospedeiros (Summers & Dib-Hajj 1995), podendo dar-se em diferentes alturas, após a sua inoculação (Beckage 1998).

Os efeitos mais imediatos do parasitismo são vistos, não só, na inibição da resposta imunitária, mas também, na alteração da expressão das proteínas do hospedeiro envolvidas na resposta imunológica, assim como na expressão de produtos codificados pelos polidnavírus, que são produzidos pelos hemócitos e outros tecidos e depois libertados na hemolinfa do hospedeiro (Beckage 1998, Shelby et al. 1998). A produção de alguns desses produtos codificados nos genes do polidnavírus está correlacionada temporariamente com a maioria dos efeitos no sistema imunitário do hospedeiro (Beckage 1998).

5.1.5. Teratócitos

Os teratócitos são células “gigantes” originadas a partir da membrana basal de embriões de endoparasitóides pertencentes às famílias Braconidae, Platygyasteridae, Scelionidae e Chalcidoidea (**Fig. 9**). Estas células desempenham um papel importante na coordenação da relação entre os parasitóides e os seus hospedeiros (Salt 1975, Tanaka 1987, Dahlman 1990, Strand & Wong 1991, Zhang et al. 1997, Qin et al. 1999, Alleyne et al. 2001, Pedata et al. 2003).

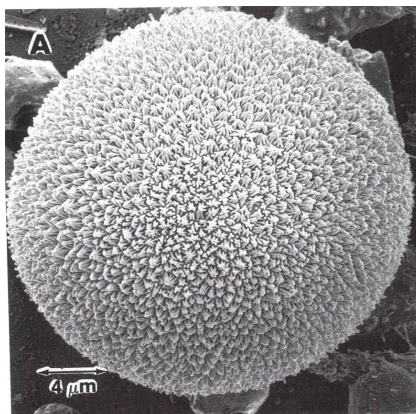


Fig. 9 - Microfotografia de microscópio electrónico de varrimento de um teratócito de *Microplitis* sp., cinco dias após a sua formação (Dahlman & Vinson 1993).

Pensa-se que os teratócitos possuem três funções principais: inibição do sistema imunitário do hospedeiro; regulação do desenvolvimento do hospedeiro; e fonte alimentar para a larva do parasitóide (Qin et al. 1999).

Os teratócitos previnem a encapsulação pelo hospedeiro, através da libertação de um inibidor da fenoloxidase, a qual é componente fundamental do sistema imunitário do hospedeiro (Kitano et al. 1990, Tanaka & Wago 1990, Qin et al. 1999). Também reduzem a concentração de ecdisteróides e inibem o metabolismo das hormonas juvenis na hemolinfa do hospedeiro, causando subsequentemente um atraso no seu desenvolvimento (Dong et al. 1996, Kraaijeveld et al. 1998, Qin et al. 1999). Os teratócitos podem segregar proteínas (Schepers et al. 1998) ou apresentar-se como alimento para a larva do parasitóide (Qin et al. 1999).

Segundo alguns autores, os teratócitos também podem desempenhar o papel de alvos alternativos, uma vez que estas células, ao se dissociarem da membrana embrionária, aumentam de tamanho e flutuam livremente na hemolinfa, ao alcance dos hemócitos do hospedeiro e da reacção de encapsulação (Ratcliffe & Rowley 1987, Strand & Wong 1991, Kraaijeveld et al. 1998).

5.2. A resistência à encapsulação e a protecção biológica

A diversidade das interacções antagonistas parasitóide-hospedeiro é extraordinária e o estudo dos mecanismos moleculares e fisiológicos nos quais se baseiam estas associações é muito interessante, sendo a sua exploração uma oportunidade para isolar genes e moléculas com potencial actividade insecticida.

Por exemplo, os polidnavírus e os seus atributos podem ter um valor potencial para a agricultura. Uma possibilidade para a utilização desse potencial é a produção de bactérias e fungos que expressem produtos dos genes dos polidnavírus, que são conhecidos pelas suas características de supressão do sistema de defesa de insectos hospedeiros (Beckage 1998). As proteínas codificadas por estes simbiossitos podem tornar-se uma importante ferramenta para a inactivação de reacções imunocelulares em pragas e uma componente essencial para a compreensão da supressão do sistema imunitário em insectos parasitados (Asgari et al. 1997).

Outra alternativa seria a modificação genética dos parasitóides a usar em programas de protecção biológica. Os parasitóides que exibam uma raça modificada do polidnavírus serão mais efectivos no controlo dos seus hospedeiros. Um dos problemas que se prende com a protecção biológica é o facto dos parasitóides serem normalmente muito limitados na escolha dos seus hospedeiros. O genoma dos polidnavírus pode, assim, oferecer uma oportunidade para a manipulação genética do parasitóide, de forma a torná-lo letal para uma

gama mais alargada de hospedeiros ou então torná-lo letal para o hospedeiro de uma forma mais rápida (Beckage 1998).

6. A encapsulação de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (Girault) pelas cochonilhas-algodão: estado da arte.

As respostas imunitárias do hospedeiro estão mal documentadas para insectos encirtídeos que parasitam cochonilhas (Sagarra et al. 2000). Os mecanismos de defesa das cochonilhas ao ataque por insectos parasitóides envolvem principalmente encapsulação e melanização dos ovos (Blumberg et al. 1995). Diversos mecanismos bioquímicos e imunológicos actuam dentro de poucas horas após a intrusão do hospedeiro por um corpo estranho (Sagarra et al. 2000). Em cochonilhas, a sequência de eventos durante a encapsulação celular pode dividir-se em dez passos, a maioria dos quais ocorre em apenas 15 minutos, demorando a reacção completa entre 1 a 3 dias (Blumberg 1997a,b). A resposta imunitária não é específica das proteínas da superfície do ovo do parasitóide, ocorrendo encapsulação de outros corpos estranhos introduzidos na hemolinfa (Sagarra et al. 2000).

Blumberg et al. (1995) estudaram a resposta de encapsulação de quatro espécies de cochonilhas, entre elas *P. citri*, ao parasitismo por *A. pseudococci* s.l.. Estes autores registaram, para a associação entre estas duas espécies, uma taxa de encapsulação agregada de 39%, situação que também pode ocorrer em pomares de citrinos. Tal significa que muitos dos ovos dos parasitóides foram destruídos pelas reacções de defesa do hospedeiro, sendo a eficácia deste parasitóide afectada negativamente. A relativamente alta taxa de encapsulação de *A. pseudococci* s.l. em *P. citri* indica, provavelmente, baixa adaptação fisiológica entre parasitóide e hospedeiro. Segundo os mesmos autores, os resultados deste estudo suportam a ideia de que diferentes taxas de encapsulação de ovos de *A. pseudococci* s.l. pelas cochonilhas estudadas não são necessariamente indicação do tempo de coexistência entre elas e o parasitóide. Desta forma, o grau de encapsulação pode não ser um parâmetro fiável do nível de adaptabilidade entre hospedeiro e parasitóide. Durante a selecção natural, um parasitóide pode perder a sua eficácia por causa do desenvolvimento de resistência imunológica por parte do seu hospedeiro ou adaptar-se gradualmente ao hospedeiro, melhorando a sua eficácia.

Quando *P. citri* foi parasitado por *A. pseudococci* s.l. foram detectadas muitas cochonilhas parasitadas contendo apenas ovos encapsulados ou ovos encapsulados acompanhados por instares imaturos vivos do parasitóide. Apesar das elevadas taxas de encapsulação observadas em culturas de insectário e de campo, *A. pseudococci* s.l. é o inimigo natural mais comum de *P. citri*. Estes níveis elevados de encapsulação colocam a

hipótese de *A. pseudococci* s.l. poder não ser parasitóide principal de *P. citri* (Blumberg et al. 2001).

Güleç et al. (2007) verificaram que a taxa de encapsulação de *P. ficus* varia com a idade do hospedeiro, tendo-se verificado taxas de encapsulação agregada em cochonilhas de 3º instar de 49,7% e em cochonilhas adultas de 60,4%, e de encapsulação efectiva de 24,8% em cochonilhas de 3º instar e de 37,5% em cochonilhas adultas.

Os efeitos da parasitização cruzada de ecótipos alopátridos e simpátridos na encapsulação foram investigados em *P. citri* e *A. pseudococci* s.l., de três origens geográficas diversas (Israel, Portugal e Sicília). A encapsulação efectiva foi afectada pela combinação de ecótipos hospedeiro-parasitóide, tendo os valores mais baixos (17%) e a mais elevados (70%) sido registados quando *A. pseudococci* s.l. israelita parasitou *P. citri* português e siciliano, respectivamente (Blumberg et al. 2001).

Por outro lado, os elevados valores de encapsulação agregada (58-88%) observados quando *P. citri* foi parasitado pelos ecótipos alopátridos de *A. pseudococci* podem indicar a existência de um período relativamente curto de associação entre esta cochonilha e *A. pseudococci* s.l. O nível de encapsulação agregada de *A. pseudococci* s.l. em *P. ficus* foi quase idêntico aos obtidos em *P. citri*, enquanto que nenhuns dos ovos de *L. dactylopii* foram encapsulados por *P. ficus*. No entanto, apesar dos elevados valores de encapsulação agregada de *A. pseudococci* s.l., os baixos valores de encapsulação efectiva por ambas as espécies *Planococcus* spp. resultam de elevada proporção de hospedeiros parasitados (Blumberg et al. 2001).

Os dados indicam que as taxas de encapsulação podem ser marcadamente afectadas pelo ecótipo do hospedeiro e do parasitóide. Tal foi revelado ao examinar os valores de encapsulação dos três ecótipos alopátridos de *A. pseudococci*, pelos três respectivos ecótipos alopátridos de *P. citri*. Os diferentes valores de encapsulação efectiva em algumas das combinações estudadas são provavelmente o resultado de diferente historial no que respeita ao hospedeiro e ao parasitóide associado. Contudo, uma vez que apenas se estudou uma só população do parasitóide e do hospedeiro de cada região, os resultados devem ser tratados como tal. No entanto, estes resultados têm algumas consequências práticas. A maior adaptabilidade hospedeiro-parasitóide, no que respeita à encapsulação, existe em combinações do ecótipo israelita de *A. pseudococci* com os ecótipos israelita e português de *P. citri*. Por outro lado, a interacção entre ecótipos portugueses e israelitas de *A. pseudococci* com cochonilhas da Sicília resultou em elevados valores de encapsulação efectiva. A escolha desses ecótipos do parasitóide para utilização em protecção biológica contra uma população particular de *P. citri* pode levar a uma mortalidade significativa na população da cochonilha ou pode mesmo levar ao não estabelecimento do parasitóide (Blumberg et al. 2001).

O cálculo dos valores de encapsulação de acordo com o padrão de postura do parasitóide (isto é, cochonilhas com ovos solitários *versus* superparasitadas) mostrou que entre as combinações dos diferentes ecótipos de *P. citri* e *A. pseudococci* s.l. estudados a média de encapsulação efectiva foi de 76,6% para cochonilhas contendo um só ovo e de 18,8% para cochonilhas contendo múltiplos ovos (Blumberg et al. 2001). Os autores sugerem que esta estratégia de oviposição do parasitóide visa reduzir os valores de encapsulação efectiva encontrados em cochonilhas parasitadas com um só ovo, aumentando desta forma o potencial de sobrevivência.

Islam & Copland (2000) verificaram que as fêmeas de *A. pseudococci* s.l. são capazes de distinguir entre hospedeiros parasitados e saudáveis. O número médio de ovos postos foi significativamente superior em hospedeiros não parasitados do que nos parasitados e o superparasitismo co-específico ocorreu mais frequentemente do que o superparasitismo próprio. Alterações em oviposições consecutivas de *A. pseudococci* s.l., após 3 horas, sugerem que a quantidade de ovos postos pela fêmea influencia o seu comportamento. Fêmeas com reduzidas quantidades de ovos evitam a oviposição em hospedeiros já parasitados, distribuindo os seus ovos em hospedeiros de elevada qualidade (não parasitados). Neste caso, ao contrário do que sugerem os dados obtidos por Blumberg et al. (2001), a percentagem de emergência da progénie de parasitóides proveniente de cochonilhas com um só ovo não diferiu significativamente da obtida a partir de cochonilhas superparasitadas (Islam & Copland 2000).

III. Material e métodos

Este estudo teve como objectivo avaliar o efeito do hospedeiro, nomeadamente seis espécies de cochonilhas-algodão pertencentes a quatro géneros distintos, *P. citri*, *P. calceolariae*, *P. ficus*, *P. viburni*, *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp., no nível de encapsulação dos ovos do parasitóide *A. sp. nov. próx. pseudococci*. Como referência comparativa, estudou-se a encapsulação do parasitóide *L. dactylopii* pelas cochonilhas-algodão *P. citri* e *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp.

O conhecimento sobre a encapsulação de ovos de *A. sp. nov. próx. pseudococci* pelas cochonilhas-algodão justifica-se, uma vez que, como referido anteriormente (**Cap. II**), é importante o conhecimento sobre a interacção entre hospedeiro e parasitóide (por exemplo, reacções de encapsulação) antes de se proceder à libertação no campo de um determinado inimigo natural com o intuito de controlar a população de uma praga. Como tal, este estudo poderá constituir um passo no sentido de desenvolver tácticas mais efectivas de protecção biológica contra cochonilhas-algodão, tendo como base um melhor conhecimento dos mecanimos de interacção parasitóide-hospedeiro.

1. Obtenção, criação e manutenção das populações de cochonilhas-algodão

Com o objectivo de minimizar possíveis problemas de contaminação das criações (por exemplo, artrópodes, fungos, bactérias), tanto os dispositivos de criação, como as instalações foram limpos e desinfectados regularmente. Os dispositivos de criação foram lavados com água corrente e detergente líquido, após a remoção dos resíduos das criações por escovagem. As bancadas de trabalho foram limpas, antes e após a sua utilização, com papel absorvente embebido em álcool etílico a 96%.

As populações das várias espécies de cochonilhas-algodão foram mantidas em câmaras climatizadas separadas por espécie e o seu manuseamento foi sempre realizado separadamente e após desinfectação da bancada de trabalho e material de manuseamento.

1.1. *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp.

As criações de *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp. foram iniciadas a partir de ovos provenientes de sacos ovígeros de fêmeas de populações de cochonilhas-algodão recolhidas no campo, em proteáceas (**Quadro 1**).

Quadro 1 - Origem, hospedeiro vegetal e datas de recolha de populações de cochonilhas-algodão, *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae), utilizadas nos ensaios.

Espécie	Região	Hospedeiro vegetal	Data de recolha
<i>Paracoccus</i> sp. e <i>Delottococcus</i> sp.	Zambujeira do Mar	Proteáceas (<i>Protea cynaroides</i> , <i>Protea</i> var “Susara”, <i>Leucospermum</i> var. “Scarlet Ribbon”, <i>Leucospermum</i> var. “High Gold” e <i>Leucadendron</i> var. “Rosette”)	Setembro 2004 Maio 2005

As cochonilhas foram mantidas em plantas envasadas de *Leucospermum* var. “Scarlet Ribbon”, uma vez que a sua manutenção em brolhos de batata (caules estiolados de *Solanum tuberosum* L.) se mostrou difícil ou inviável após estudos preliminares de viabilidade fitófago/hospedeiro vegetal.

As plantas infestadas foram colocadas, duas a duas, em gaiolas com 40 x 50 x 60cm envolvidas por tule, para impedir as trocas de insectos com o exterior, em estufa de vidro não climatizada (**Fig. 10**) (Passarinho et al. 2006).



Fig. 10 - Gaiola contendo duas plantas envasadas do género *Leucospermum* (Proteacea) (unidade experimental) (original da autora).

1.2. *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Pseudococcus viburni* (Signoret)

Como substrato vegetal para a criação destas cochonilhas, utilizaram-se batatas abrolhadas (caules estiolados de *S. tuberosum*) da variedade Desirée. O abrolhamento inicial dos tubérculos foi realizado numa sala separada das criações para evitar contaminações dos brotos de batata por qualquer uma das espécies em criação.

Antes da sua utilização procedeu-se à lavagem em água corrente e escovagem para remoção dos resíduos aderentes à superfície dos tubérculos. Posteriormente, foram colocados em tabuleiros apropriados, cobertos por um tecido de cor negra para evitar a formação de solanina (esta substância pode interferir negativamente no desenvolvimento das cochonilhas) e mantidos à temperatura e humidade relativa ambientes, durante cerca de 20 dias, até se formarem brotos com um comprimento médio de 5cm. Todos os dias, os tubérculos foram pulverizados com água de forma a manter as condições adequadas de humidade.

A fase de criação em laboratório de cada uma das espécies de cochonilhas-algodão consideradas consistiu em infestar os tubérculos com dois sacos ovígeros recolhidos da cochonilha-algodão em postura por cada broto de batata (**Fig. 11**). De seguida, colocaram-se oito tubérculos infestados por caixa de plástico (17 x 17cm, 9cm de altura), fechada com tampa hermética com cinco orifícios (3cm de diâmetro), revestidos com “étamine” para permitir o arejamento, e mantida numa câmara climatizada (24-26°C, 70±10% H.R., 0L:24E) até se obterem fêmeas no início da postura para se poderem efectuar novas criações e manter desta forma as colónias de cochonilhas-algodão em laboratório. Com o objectivo de preservar, num nível adequado, a diversidade genética, a colónia foi mantida com várias centenas de fêmeas em cada geração.



Fig. 11 - Brotos de batata (*Solanum tuberosum* L.) infestados com *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) (original da autora).

O material de origem de cada espécie foi obtido a partir de populações de cochonilhas-algodão recolhidas no campo, em citrinos e vinha (**Quadro 2**).

Quadro 2 - Origem, hospedeiro vegetal e datas de recolha de populações de cochonilhas-algodão, *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Pseudococcus viburni* (Signoret) (todos Hemiptera: Pseudococcidae), utilizadas para criação em massa, em condições controladas de laboratório.

Espécie	Origem	Hospedeiro vegetal	Data de recolha
<i>P. citri</i>	Silves	Laranjeira-doce (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck)	Outubro 2004, Junho 2005, Julho 2006, Julho 2007
<i>P. ficus</i>	Palmela	Vinha (<i>Vitis vinífera</i> L.)	Outubro 2007
<i>P. calceolariae</i>	Silves	Laranjeira-doce (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck)	Junho 2006
<i>P. viburni</i>	Odemira	Laranjeira-doce (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck)	Março 2008

2. Obtenção, criação e manutenção das populações de parasitóides

Os parasitóides da espécie *A. sp. nov. próx. pseudococci* foram obtidos a partir de cochonilhas parasitadas recolhidas no campo (**Quadro 3**). À medida que emergiram, os parasitóides foram colocados em contentores de criação, com colónias de cochonilha-algodão criadas em laboratório.

No caso de *L. dactylopii*, os parasitóides eram provenientes de biofábricas (**Quadro 3**), tendo a sua criação e manutenção em laboratório sido realizada de forma idêntica à de *A. sp. nov. próx. pseudococci*.

Quadro 3 - Origem, hospedeiro vegetal e datas de recolha de populações dos parasitóides *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) obtidos a partir de colónias de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae), utilizadas para criação em massa em condições controladas de laboratório.

Espécie	Origem	Hospedeiro vegetal	Data de recolha
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	Silves	Laranjeira-doce (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck)	Outubro 2004, Julho 2006
<i>L. dactylopii</i>	Espanha	—	Julho 2005
	Sicília	—	Abril 2007

O contentor de criação consistia num frasco de plástico com 14cm de diâmetro e 15cm de altura, fechado com tampa hermética com um orifício com 3cm de diâmetro, revestido com “étamine”, para permitir o arejamento, no qual foram colocados dois túberculos infestados com uma das espécies de cochonilha-algodão. Quando as colónias das cochonilhas se encontravam no estado de desenvolvimento mínimo pretendido (maioria dos indivíduos no terceiro instar e algumas jovens fêmeas adultas), cerca de 12 a 14 dias após as primeiras infestações, introduziam-se no contentor de criação cerca de 10-20 parasitóides recém emergidos de ambos os sexos, para manter as colónias de parasitóides. Os contentores foram mantidos em câmara climatizada, à temperatura de 24-26°C, humidade de 70±10% H.R. e fotoperíodo de 14L:10E.

Os parasitóides utilizados nos ensaios foram recolhidos e colocados em contentores do mesmo tipo dos de criação, colocando-se na parede interior, com a ajuda de uma pinça, solução de mel e água (50:50). O mel, além de permitir a alimentação dos parasitóides, também, evita o “stress” devido à fome e, assim, o insecto quando libertado nos frascos não tem como prioridade a procura de alimento mas sim a procura de hospedeiro para a postura (Islam & Jahan 1992).

A recolha dos parasitóides adultos efectuou-se com o auxílio de um dispositivo de sucção. Para transferir os parasitóides, deste dispositivo para um novo contentor de criação, deu-se uma pequena batida nas paredes do tubo de forma a atordoar os insectos.

Em cada ensaio foram utilizadas 10 fêmeas de parasitóide acasaladas.

O condicionamento ambiental foi o idêntico ao referido anteriormente para o desenvolvimento em laboratório das cochonilhas (com excepção do fotoperíodo).

3. Procedimento experimental

Nos ensaios realizados com as espécies de cochonilhas-algodão das proteáceas, devido à sua especificidade, considerou-se como unidade experimental uma gaiola contendo no seu interior duas plantas envasadas de *Leucospermum* var. “Scarlet Ribbon”, infestadas com populações mistas de *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp. (**Fig. 10**), isto é, cerca de 80 a 90 ninfas do 3º ou 4º instar. A separação destas cochonilhas não foi possível, por se tratar de duas espécies ainda não descritas. A densidade relativa de cada espécie variou ao longo dos ensaios realizados uma vez que estes decorreram sob condições não controladas de temperatura, humidade relativa e fotoperíodo (estufa não climatizada).

Cada unidade experimental foi exposta a grupos de 10 fêmeas adultas fecundadas do parasitóide (**Fig. 12 A e B**), com menos de 48h de idade, provenientes de populações com número máximo de 50 gerações em laboratório (**Quadro 4**).

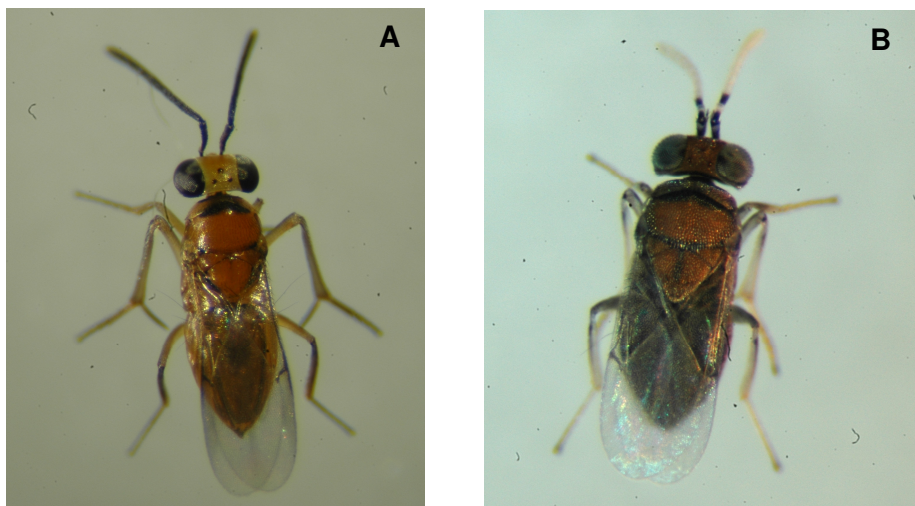


Fig. 12 - Espécies de parasitóides estudadas:

A - Fêmea adulta de *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) (3mm) (original da autora).

B - Fêmea adulta de *Anagyrus sp. nov. prox. pseudococci* (sensu Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) (2mm) (original da autora).

Decorridos 10 dias da introdução do parasitóide, transferiram-se as cochonilhas para uma solução de álcool etílico a 70%, onde foram conservadas para posterior observação e estudo da encapsulação (**Fig. 13**).

Nos restantes ensaios, considerou-se como unidade experimental colônias de cochonilha-algodão, com 80 fêmeas adultas jovens e virgens, instaladas em brotos de batata, em contentores de criação (**Fig. 14**). As fêmeas foram isoladas após a muda para o terceiro instar, para garantir homogeneidade do estado de desenvolvimento e evitar fecundação, tendo sido utilizadas nos ensaios decorridos 8 dias do isolamento (isto é,



Fig. 13 - Eppendorf contendo as cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) em álcool etílico a 70%, para posterior observação dos níveis de encapsulação.



Fig. 14 - Contentor de criação contendo 80 fêmeas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae), instaladas nos brotos da batata, e 10 fêmeas de parasitóide (Hymenoptera: Encyrtidae).

jovens fêmeas adultas com 5 dias após emergência). Cada unidade experimental foi exposta, durante 48 horas, a grupos de 10 fêmeas adultas fecundadas do parasitóide (**Fig. 12 A e B**), com 44 a 48 horas de idade e provenientes de populações com número máximo de 50 de gerações em laboratório (**Quadro 4**). Em cada contentor, foram introduzidas algumas gotas de solução de mel e água, para servir de alimento ao parasitóide. Após as 48 horas de exposição em câmara climatizada, à temperatura de 24-26°C, 70±10% H.R. e fotoperíodo 14L:10E, as fêmeas do parasitóide foram removidas, tendo as cochonilhas parasitadas sido mantidas em câmara climatizada, durante 8 dias, para garantir a completa evolução do processo de encapsulação e facilitar a sua observação. Findo este período, as cochonilhas foram transferidas para uma solução de álcool etílico a 70% (**Fig. 13**), onde foram conservadas para posterior dissecação e estudo da encapsulação.

Foram efectuadas 12 repetições, excepto na combinação *P. viburni* x *A. sp. nov. próx. pseudococci*, da qual apenas se realizaram quatro repetições devido a limitações impostas pelo hospedeiro e parasitóide. No **Quadro 4**, indicam-se as datas de realização dos ensaios.

Os ensaios decorreram no Laboratório de Bioecologia de Pragas e Auxiliares do Departamento de Protecção das Plantas e Fitoecologia, do Instituto Superior de Agronomia (Universidade Técnica de Lisboa) e na estufa do Departamento de Protecção de Plantas da Estação Agronómica Nacional (ensaios com as cochonilhas das proteáceas).

Quadro 4 - Período de realização dos ensaios e número de gerações em laboratório dos parasitóides *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae) utilizados nos ensaios com as cochonilhas-algodão: *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *Pseudococcus viburni* (Signoret), *Paracoccus sp.* e *Delottococcus sp.* (Hemiptera: Pseudococcidae).

Cochonilha-algodão	Parasitóide	Período de realização dos ensaios	Número de gerações dos parasitóides em laboratório
<i>Paracoccus sp.</i> e <i>Delottococcus sp.</i>	<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	Março – Junho 2005	8 – 16
<i>Paracoccus sp.</i> e <i>Delottococcus sp.</i>	<i>L. dactylopii</i>	Julho – Agosto 2005	0 – 1
<i>P. calceolariae</i>	<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	Janeiro – Fevereiro 2008	36 – 38
<i>P. citri</i>	<i>L. dactylopii</i>	Janeiro – Agosto 2008	18 – 32
<i>P. citri</i>	<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	Fevereiro – Agosto 2008	38 – 50
<i>P. ficus</i>	<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	Abril – Junho 2008	42 – 46
<i>P. viburni</i>	<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	Julho – Agosto 2008	48 – 50

4. Determinação dos níveis de encapsulação e restantes parâmetros

A observação da encapsulação não é fácil nos pseudococcídeos, ao contrário dos coccídeos (**Fig. 5A**), devido à presença de secreções cerosas (**Fig. 15**) que não permitem a visualização, através do dorso do corpo da cochonilha, da cápsula melanizada que envolve o ovo do parasitóide. Assim, antes de se proceder à dissecação de cada exemplar, submeteram-se as cochonilhas a um processo de clarificação, por imersão numa solução 1:1 de fenolcloral e ácido acético, durante um período mínimo de 24 horas.

A dissecação foi efectuada ao microscópio estereoscópico (10 a 40x), com auxílio de agulhas entomológicas. Para cada exemplar estudado, determinou-se o número total de ovos postos pelo parasitóide, a localização dos ovos e o número de ovos encapsulados (**Anexo 1**). Por encapsulação entende-se ovos nos quais ocorreu deposição de melanina (**Cap. II**).

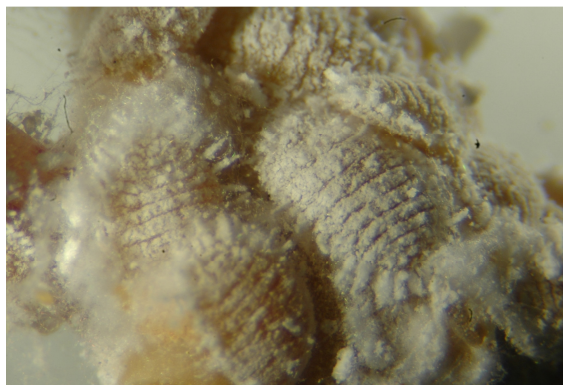


Fig. 15 - Fêmeas em postura de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae): observam-se as secreções cerosas que cobrem o corpo destas cochonilhas (original da autora).

Para cada combinação hospedeiro-parasitóide, foram determinados os seguintes parâmetros:

- 1) Oviposição, número de ovos de parasitóide postos por hospedeiro e a sua localização, e taxa de superparasitismo, proporção de hospedeiros parasitados com mais de dois ovos de parasitóide (**Fig. 16 C**); consideram-se três situações, nomeadamente, cochonilhas com dois ou mais ovos encapsulados (SP), cochonilhas com três ou mais ovos encapsulados (SP III) e cochonilhas com quatro ou mais ovos encapsulados (SP IV);
- 2) Taxa de parasitismo, proporção de hospedeiros parasitados;
- 3) Encapsulação agregada (EA), percentagem de ovos do parasitóide que foram encapsulados (Blumberg 1991a);

4) Encapsulação efectiva (EE), percentagem de hospedeiros parasitados que encapsularam todos os ovos de parasitóide, impedindo desta forma qualquer desenvolvimento do parasitóide (Blumberg 1991a);

5) Encapsulação efectiva relativa (EER), percentagem de hospedeiros parasitados com ovos encapsulados, em que todos os ovos postos pelo parasitóide foram encapsulados (JC Franco, comun. pess. 2003).



Fig. 16 - Exemplares de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) parasitados:

A – pupa do parasitóide com desenvolvimento normal (*Planococcus ficus* (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci sensu* Triapitsyn et al. 2007); **B** – ovo encapsulado (*Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci sensu* Triapitsyn et al. 2007); **C** – vários ovos encapsulados (superparasitismo) (*Pseudococcus calceolariae* (Maskell) x *Leptomastix dactylopii* Howard) (originais da autora).

Para a determinação dos índices de agregação e superparasitismo consideraram-se as seguintes variáveis:

E_T = número total de ovos postos pelo parasitóide

E_E = número total de ovos encapsulados

TE = número total de hospedeiros parasitados com ovos encapsulados

TP = número total de hospedeiros parasitados

$TP1$ = número total de hospedeiros parasitados com um ovo

TET = número total de hospedeiros parasitados com todos os ovos encapsulados

$TP-TE$ = número total de hospedeiros parasitados sem ovos encapsulados

$TE-TET$ = número total de hospedeiros parasitados com ovos encapsulados e pelo menos um ovo não encapsulado

Os índices foram calculados com base nas seguintes equações:

$$EA = E_E / E_T$$

$$EE = TET / TP$$

$$EER = TET / TE$$

$$SP = 1 - (TP1 / TP)$$

5. Análise estatística

Procedeu-se à elaboração de Quadros com os valores dos diferentes parâmetros, para cada uma das modalidades em estudo (**Anexo 2**). Foi calculado, para cada parâmetro, o valor médio e o erro padrão.

O tratamento estatístico dos dados foi efectuado através de análise de variância (ANOVA) para todos os parâmetros em estudo. Considerou-se como variável dependente cada um dos parâmetros em estudo e como factor fixo a combinação hospedeiro-parasitóide.

Os dados em percentagens ou proporções (p) foram previamente sujeitos a transformação angular: $\arcsen \sqrt{p}$, recomendável sempre que os dados saem fora do intervalo 30% a 70% (Sokal & Rohlf 1987). Os dados relativos ao número de ovos sofreram transformação logarítmica: $\ln(x + 0,5)$. Os valores apresentados nas Figuras e Quadros são os valores não transformados.

A comparação de médias foi efectuada através do teste *a posteriori* de Tukey, excepto no caso dos dados relativos aos dois parasitóides e aos hospedeiros *P. citri* e *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. em que a comparação de médias foi realizada através do teste *t* de Student.

Não se realizou análise estatística dos dados referentes aos ensaios com a cochonilha-algodão *P. viburni* uma vez que apenas se realizaram quatro repetições.

A ANOVA e os testes de comparação de médias foram efectuados através do programa SPSS versão 15.0 para Windows (**Anexo 3**).

IV. Resultados

1. Oviposição e superparasitismo

Os resultados sobre a oviposição de *A. sp. nov. próx. pseudococci* nas cochonilhas-algodão estudadas mostram que os ovos solitários constituíram a situação mais frequente para todas as espécies, excepto para *P. calceolariae* onde o superparasitismo prevaleceu (**Fig. 17**). No caso das cochonilhas-algodão das proteas, todas as posturas efectuadas pelos parasitóides corresponderam a posturas solitárias, isto é, em nenhuma situação ocorreu superparasitismo.

A taxa de superparasitismo de *A. sp. nov. próx. pseudococci* variou entre 0% e 51%, correspondendo, respectivamente, aos hospedeiros *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* e *P. calceolariae*.

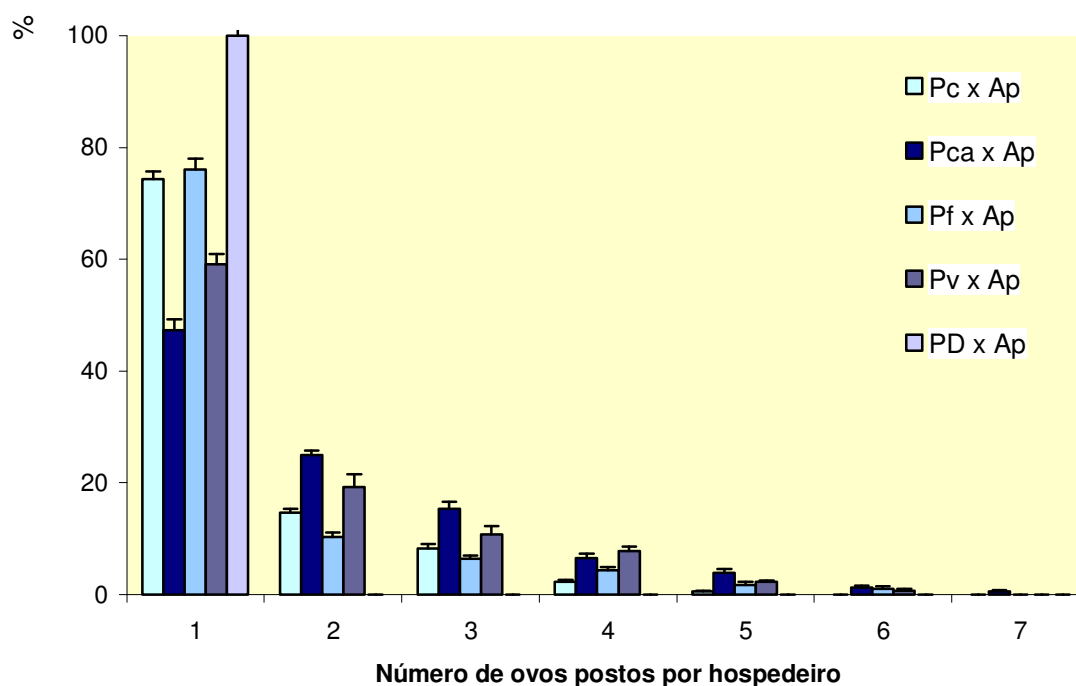


Fig. 17 - Distribuição de frequências do número de ovos postos por fêmea de *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) em cada hospedeiro (Hemiptera: Pseudococcidae) estudado: “Pc x Ap” = *Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pca x Ap” = *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pf x Ap” = *Planococcus ficus* (Signoret) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pv x Ap” = *Pseudococcus viburni* (Signoret) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “PD x Ap” = *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007).

O padrão de oviposição de *A. sp. nov. próx. pseudococci* e *L. dactylopii* em *P. citri* foi semelhante (**Fig. 18**). Em ambas as combinações, verificou-se predominância de posturas de apenas um ovo (superior a 70%).

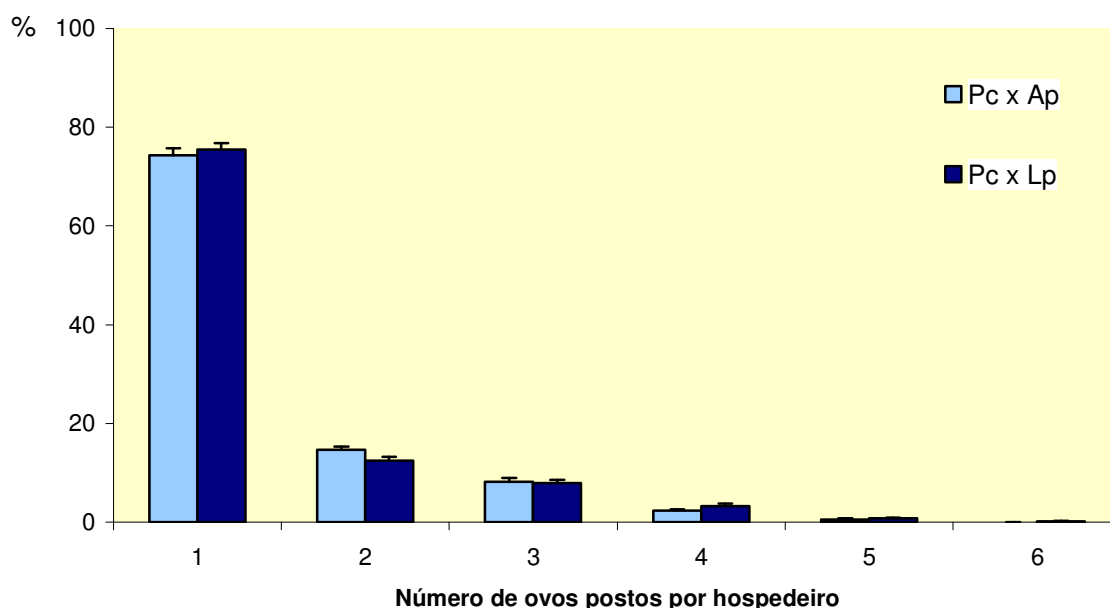


Fig. 18 - Distribuição de frequências do número de ovos postos por fêmea de *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae): “Pc x Ap” = *Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pc x Lp” = *Planococcus citri* (Risso) x *Leptomastix dactylopii* Howard.

Analisando a distribuição de frequências do número de ovos postos por *A. sp. nov. próx. pseudococci* e *L. dactylopii* em *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.*, verificou-se que se mantém a semelhança entre estes dois parasitóides. Nestes hospedeiros, ambos os parasitóides só realizaram posturas solitárias, alterando o padrão de oviposição.

No que respeita à taxa de superparasitismo, registaram-se diferenças significativas entre as combinações de hospedeiro - parasitóide (*A. sp. nov. próx. pseudococci*) estudadas, independentemente do critério considerado (**Quadro 5**). Considerando a taxa média de superparasitismo SP, confirmou-se que *P. calceolariae* diferiu significativamente ($F_{2,33} = 28,19$; $p < 0,001$) de *P. citri* e de *P. ficus*, mas estas duas últimas espécies não diferiram entre si. Situação idêntica ocorreu quando se considerou a taxa média de superparasitismo SP III ($F_{2,33} = 9,80$; $p < 0,001$). No caso da taxa média de superparasitismo SP IV, verificou-se que *P. citri* diferiu sinificativamente ($F_{2,33} = 6,48$; $p = 0,004$) de *P. calceolariae*, mas não de *P. ficus*, e *P. calceolariae* diferiu significativamente ($F_{2,33} = 6,48$; $p = 0,004$) de *P. citri*, mas não de *P. ficus*.

Não se observaram diferenças significativas nas taxas médias de superparasitismo SP ($t_{11} = 0,63$; $p = 0,539$), SP III ($t_{11} = 0,12$; $p = 0,901$) e SP IV ($t_{11} = 0,78$; $p = 0,447$) entre os

parasitóides *A. sp. nov. próx. pseudococci* e *L. dactylopii*, quando estes parasitaram *P. citri* (Quadro 6).

No Quadro 7, apresenta-se a distribuição de frequências do número de ovos por hospedeiro nas combinações entre os hospedeiros *P. citri*, *P. calceolariae* e *P. ficus* e o parasitóide *A. sp. nov. próx. pseudococci*. A análise comparativa do padrão de distribuição dos ovos postos por *A. sp. nov. próx. pseudococci*, conduziu à rejeição da hipótese nula: a distribuição de frequências dos ovos de *A. sp. nov. próx. pseudococci* é independente da espécie do hospedeiro. Observaram-se diferenças significativas entre o padrão de distribuição dos ovos deste parasitóide em *P. citri* e *P. calceolariae* ($X^2 = 413,3$; $p < 0,001$) e em *P. citri* e *P. ficus* ($X^2 = 63,172$; $p < 0,001$).

Quadro 5 - Taxa média de superparasitismo (\pm erro padrão) relativa a três situações de superparasitismo, nas combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) (SP= cochonilhas com dois ou mais ovos, SP III= cochonilhas com três ou mais ovos, SP IV= cochonilhas com quatro ou mais ovos).

Hospedeiro	SP	SP III	SP IV
<i>P. citri</i>	0,26 \pm 0,02a	0,12 \pm 0,01a	0,03 \pm 0,01a
<i>P. calceolariae</i>	0,50 \pm 0,03b	0,26 \pm 0,03b	0,18 \pm 0,02b
<i>P. ficus</i>	0,25 \pm 0,03a	0,14 \pm 0,02a	0,07 \pm 0,02ab

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p = 0,05$).

Quadro 6 - Taxa média de superparasitismo (\pm erro padrão) relativa a três situações de superparasitismo, nas combinações entre o hospedeiro *Planococcus citri* (Risso) e os parasitóides *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) (SP= cochonilhas com dois ou mais ovos, SP III= cochonilhas com três ou mais ovos, SP IV= cochonilhas com quatro ou mais ovos).

Parasitóide	SP	SP III	SP IV
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	0,26 \pm 0,02a	0,12 \pm 0,01a	0,03 \pm 0,01a
<i>L. dactylopii</i>	0,25 \pm 0,02a	0,12 \pm 0,01a	0,04 \pm 0,01a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p = 0,05$).

Quadro 7 - Distribuição de frequências do número de ovos por hospedeiro nas combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae).

Hospedeiro	Número de ovos por hospedeiro				Totais
	1	2	3	≥ 4	
<i>P. citri</i>	644	127	71	26	868
<i>P. calceolariae</i>	376	198	122	98	794
<i>P. ficus</i>	641	87	54	60	842

2. Proporção de ovos encapsulados

Da análise dos dados referentes ao parasitismo (**Quadro 8**), verifica-se que, para qualquer dos parâmetros tratados, os valores mais elevados foram alcançados na combinação do parasitóide *A. sp. nov. próx. pseudococci* com o hospedeiro *P. calceolariae* e os valores mais baixos, com o mesmo parasitóide, foram obtidos no hospedeiro *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.*

Comparando os dados referentes a *P. citri*, observa-se que os valores obtidos com os dois parasitóides estudados foram idênticos, o mesmo acontecendo com os dados referentes às cochonilhas-algodão das proteáceas.

Quadro 8 - Valor médio (\pm erro padrão) de diferentes parâmetros de postura e encapsulação de ovos dos parasitóides *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) nas cochonilhas-algodão estudadas (*Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *Planococcus ficus* (Signoret), *Pseudococcus viburni* (Signoret) e *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.*) (Hemiptera: Pseudococcidae).

Hospedeiro:	<i>P. citri</i>	<i>P. calceolariae</i>	<i>P. ficus</i>	<i>P. viburni</i>	<i>Paracoccus</i> sp./ <i>Delottococcus</i> sp.	<i>P. citri</i>	<i>Paracoccus</i> sp./ <i>Delottococcus</i> sp.
Parasitóide:	<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>					<i>L. dactylopii</i>	
Nº médio de ovos postos por cochonilha	1,28 \pm 0,03	1,62 \pm 0,11	1,32 \pm 0,07	1,43 \pm 0,05	0,39 \pm 0,03	1,22 \pm 0,04	0,39 \pm 0,01
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha	0,74 \pm 0,04	1,45 \pm 0,12	0,66 \pm 0,06	1,14 \pm 0,03	0,02 \pm 0,005	0,69 \pm 0,03	0,00 \pm 0,00
Nº médio de ovos postos por cochonilha parasitada	1,43 \pm 0,03	1,96 \pm 0,11	1,52 \pm 0,08	1,77 \pm 0,03	1,00 \pm 0,00	1,43 \pm 0,04	1,00 \pm 0,00
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada	0,82 \pm 0,05	1,75 \pm 0,13	0,76 \pm 0,07	1,41 \pm 0,03	0,06 \pm 0,02	0,81 \pm 0,84	0,00 \pm 0,00

O número médio de ovos de *A. sp. nov. próx. pseudococci* postos por hospedeiro parasitado foi significativamente ($F_{2,33} = 12,77$; $p < 0,001$) mais elevado em *P. calceolariae*, quando comparado com *P. citri* e *P. ficus*. Situação idêntica foi verificada para o número médio de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado ($F_{2,33} = 41,01$; $p < 0,001$). As espécies *P. citri* e *P. ficus* não diferiram entre si, no que diz respeito ao número médio de ovos postos por hospedeiro parasitado e número médio de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado (**Quadro 9**).

Na análise do número médio de ovos postos por hospedeiro parasitado, não se verificaram diferenças significativas ($t_{11} = 0,00$; $p = 1,000$) entre os dois parasitóides estudados quando o hospedeiro foi *P. citri*. Relativamente ao número médio de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado, também não se verificaram diferenças significativas ($t_{11} = 0,24$; $p = 0,810$) (**Quadro 10**).

Relativamente a *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp., não se observaram diferenças no número médio de ovos postos por hospedeiro parasitado entre os dois parasitóides, uma vez que em todos os casos ocorreram apenas posturas solitárias. O número médio de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado diferiu significativamente ($t_{11} = 5,10$; $p < 0,001$) entre as duas espécies de parasitóides, *A. sp. nov. próx. pseudococci* e *L. dactylopii* (**Quadro 11**).

Quadro 9 - Número médio (\pm erro padrão) de ovos por hospedeiro parasitado e de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado, nas combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae).

Hospedeiro	Nº médio de ovos por hospedeiro parasitado	Nº médio de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado
<i>P. citri</i>	1,43 \pm 0,03a	0,82 \pm 0,05a
<i>P. calceolariae</i>	1,96 \pm 0,11b	1,75 \pm 0,13b
<i>P. ficus</i>	1,52 \pm 0,08a	0,76 \pm 0,07a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p = 0,05$).

Quadro 10 - Número médio (\pm erro padrão) de ovos por hospedeiro parasitado e de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado, nas combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Nº médio de ovos por hospedeiro parasitado	Nº médio de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	1,43 \pm 0,03a	0,82 \pm 0,05a
<i>L. dactylopii</i>	1,43 \pm 0,04a	0,81 \pm 0,03a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p = 0,05$).

Quadro 11 - Número médio (\pm erro padrão) de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado, nas combinações entre *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Nº médio de ovos encapsulados por hospedeiro parasitado
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	0,07 \pm 0,02b
<i>L. dactylopii</i>	0,00 \pm 0,00a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p = 0,05$).

3. Encapsulação agregada

A encapsulação agregada, ou seja, a percentagem total de ovos encapsulados, de *A. sp. nov. próx. pseudococci* variou entre 7% e 88%, respectivamente, nos hospedeiros *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* e *P. calceolariae* (Fig. 19).

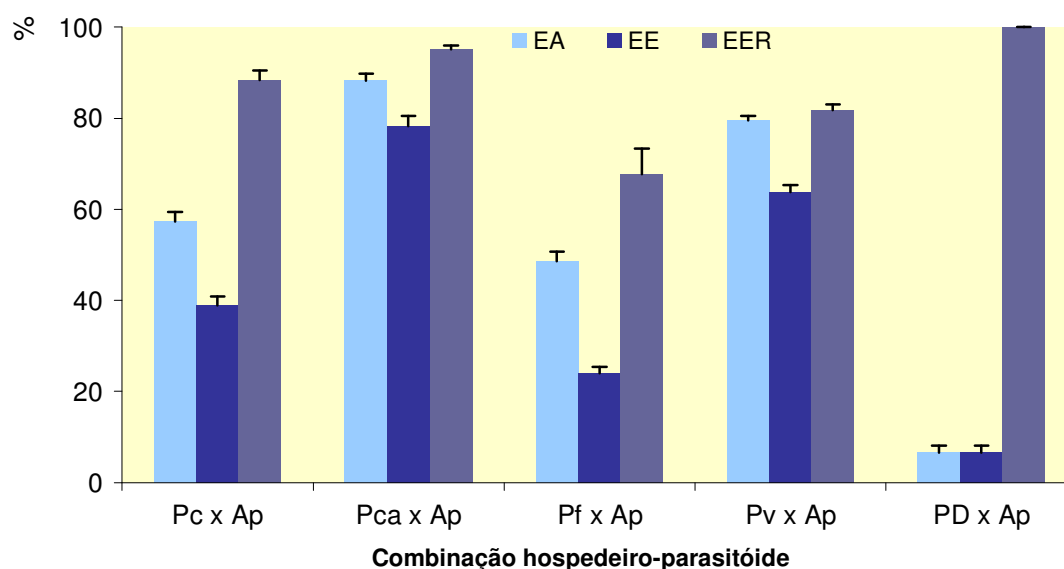


Fig. 19 - Valores de encapsulação agregada (EA), encapsulação efectiva (EE) e encapsulação efectiva relativa (EER) dos ovos de *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) em cada hospedeiro (Hemiptera: Pseudococcidae) estudado: “Pc x Ap” = *Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pca x Ap” = *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pf x Ap” = *Planococcus ficus* (Signoret) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pv x Ap” = *Pseudococcus viburni* (Signoret) x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “PD x Ap” = *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007).

Comparando a encapsulação agregada de *A. sp. nov. próx. pseudococci* e *L. dactylopii* em *P. citri*, não se verificam diferenças entre os dois parasitóides (Fig. 20). No entanto, no caso de *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* a encapsulação agregada foi nula em *L. dactylopii* (Fig. 21).

Registaram-se diferenças significativas ($F_{2,33} = 113,10$; $p < 0,001$) entre as três combinações estudadas de *A. sp. nov. próx. pseudococci* com *P. citri*, *P. calceolariae* e *P. ficus* (Quadro 12), verificando-se que todas as espécies diferem entre si. A encapsulação agregada em *P. citri* dos ovos dos dois parasitóides estudados não diferiu significativamente ($t_{11} = 15,480$; $p = 0,23$) entre si (Quadro 13), tendo-se registado diferenças significativas ($t_{11} = 4,151$; $p = 0,01$) no caso de *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* (Quadro 14).

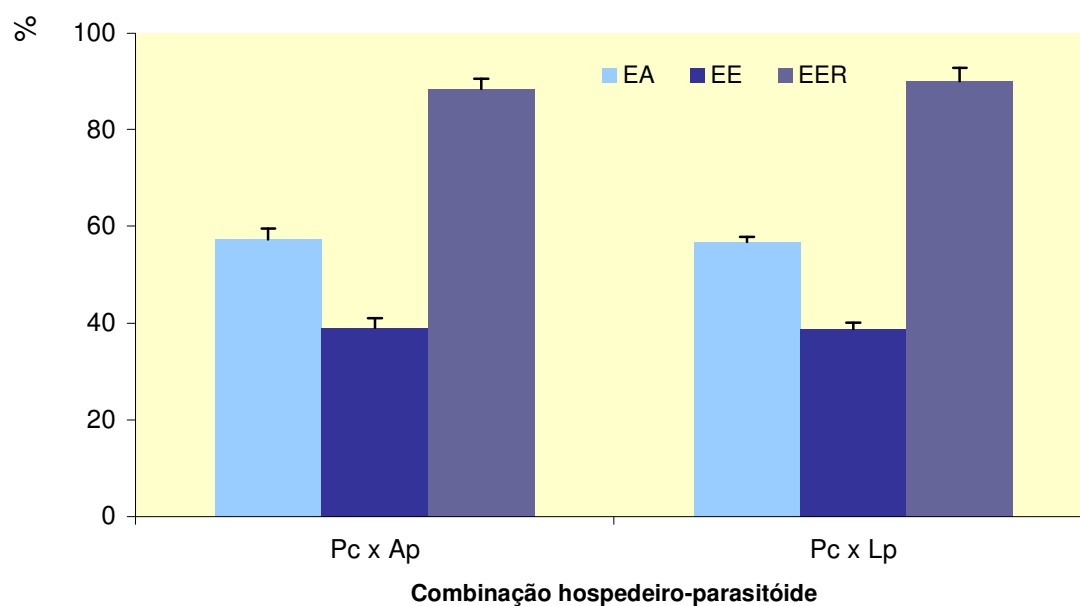


Fig. 20 - Valores de encapsulação agregada (EA), encapsulação efectiva (EE) e encapsulação efectiva relativa (EER) de *Anagyrus* sp. nov. prós. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera:Pseudococcidae): "Pc x Ap" = *Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. prós. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); "Pc x Lp" = *Planococcus citri* (Risso) x *Leptomastix dactylopii* Howard.

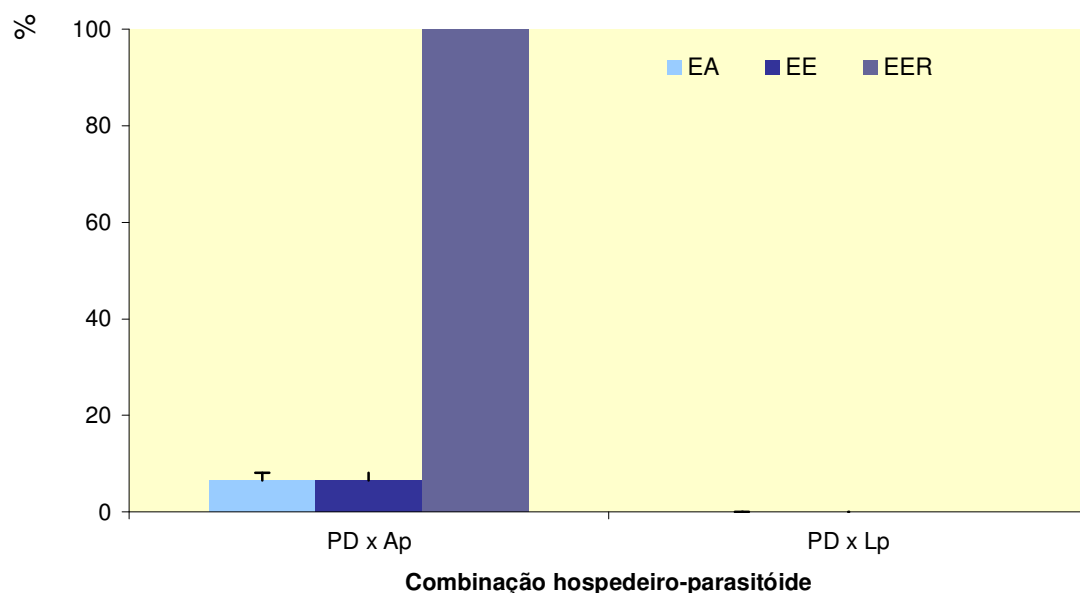


Fig. 21 - Valores de encapsulação agregada (EA), encapsulação efectiva (EE) e encapsulação efectiva relativa (EER) de *Anagyrus* sp. nov. prós. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera:Pseudococcidae): "PD x Ap" = *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. x *Anagyrus* sp. nov. prós. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); "PD x Lp" = *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. x *Leptomastix dactylopii* Howard.

Quadro 12 - Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação agregada referente às combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae).

Hospedeiro	Média \pm EP
<i>P. citri</i>	57,33 \pm 2,15b
<i>P. ficus</i>	38,99 \pm 1,95a
<i>P. calceolariae</i>	88,37 \pm 2,15c

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p=0,05$).

Quadro 13 - Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação agregada referente às combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Média \pm EP
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	57,33 \pm 2,15a
<i>L. dactylopii</i>	56,77 \pm 0,99a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p=0,05$).

Quadro 14 - Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação agregada referente às combinações entre *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Média \pm EP
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	6,56 \pm 1,58a
<i>L. dactylopii</i>	0,00 \pm 0,00b

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p=0,05$).

4. Encapsulação efectiva

A encapsulação efectiva, ou percentagem de hospedeiros parasitados que sobrevivem ao parasitismo por encapsularem todos os ovos, variou entre 7% e 78% para *A. sp. nov. próx. pseudococci*, e entre 0% e 39% para *L. dactylopii* (Figs. 19-21).

Verificaram-se diferenças significativas ($F_{2,33} = 188,62$; $p < 0,001$) na taxa de encapsulação efectiva de *A. sp. nov. próx. pseudococci* pelas três cochonilhas-algodão estudadas (*P. citri*, *P. calceolariae* e *P. ficus*) (Quadro 15). Relativamente à encapsulação efectiva em *P. citri* pelos dois parasitóides estudados, não se verificaram diferenças significativas ($t_{11} = 0,08$; $p = 0,938$) (Quadro 16).

Nos ensaios com as cochonilhas *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. verificaram-se diferenças significativas ($t_{11} = 4,151$; $p = 0,01$) (Quadro 17) na taxa média de encapsulação

efectiva de *A. sp. nov. prox. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e de *L. dactylopii* (os valores de encapsulação efectiva são idênticos aos da encapsulação agregada).

Quadro 15 - Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva referente às combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus sp. nov. prox. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae).

Hospedeiro	Média \pm EP
<i>P. citri</i>	38,99 \pm 1,95 b
<i>P. calceolariae</i>	78,33 \pm 2,17 c
<i>P. ficus</i>	23,92 \pm 1,46 a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p=0,05$).

Quadro 16 - Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva referente às combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus sp. nov. prox. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Média \pm EP
<i>A. sp. nov. prox. pseudococci</i>	38,99 \pm 1,95 a
<i>L. dactylopii</i>	38,80 \pm 1,30 a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p=0,05$).

Quadro 17 - Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva referente às combinações entre *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus sp. nov. prox. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Média \pm EP
<i>A. sp. nov. prox. pseudococci</i>	6,56 \pm 1,58 b
<i>L. dactylopii</i>	0,00 \pm 0,00 a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p=0,05$).

5. Encapsulação efectiva relativa

A encapsulação efectiva relativa dá-nos a percentagem de hospedeiros que sobrevivem por terem encapsulado todos os ovos do parasitóide, relativamente ao total de hospedeiros com capacidade para encapsular ovos. Este ndice de encapsulação variou entre 68% e 100% para *A. sp. nov. prox. pseudococci* e entre 0% e 90% para *L. dactylopii* (**Figs. 19-21**), tendo-se registado diferenças significativas ($F_{2,33}=19,15$; $p<0,001$) entre as combinações estudadas de *A. sp. nov. prox. pseudococci* e os hospedeiros *P. citri*, *P. calceolariae* e *P. ficus* (**Quadro 18**).

Não se verificaram diferenças significativas ($t_{11} = 0,47$; $p = 0,646$) nesta taxa quando se comparam os dois parasitóides estudados em *P. citri*, mantendo-se a tendência verificada para a encapsulação agregada e encapsulação efectiva (**Quadro 19**).

Quadro 18 - Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva relativa referente às combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae).

Hospedeiro	Média \pm EP
<i>P. citri</i>	88,37 \pm 2,15b
<i>P. calceolariae</i>	95,15 \pm 0,74b
<i>P. ficus</i>	67,78 \pm 5,54a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p = 0,05$).

Quadro 19 - Taxa média (\pm erro padrão) de encapsulação efectiva relativa referente às combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Média \pm EP
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	88,37 \pm 2,15a
<i>L. dactylopii</i>	90,00 \pm 2,76a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p = 0,05$).

No caso das cochonilhas *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. a taxa de encapsulação efectiva relativa foi de 100% para *A. sp. nov. próx. pseudococci* e nula para *L. dactylopii*.

6. Taxa de parasitismo

A taxa de parasitismo de *A. sp. nov. próx. pseudococci* variou entre 40% e 90%, respectivamente, nos hospedeiros *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. e *P. citri* (**Fig. 22**). No caso de *L. dactylopii*, variou entre 39% e 84%, respectivamente, em *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. e *P. citri* (**Figs. 23 e 24**).

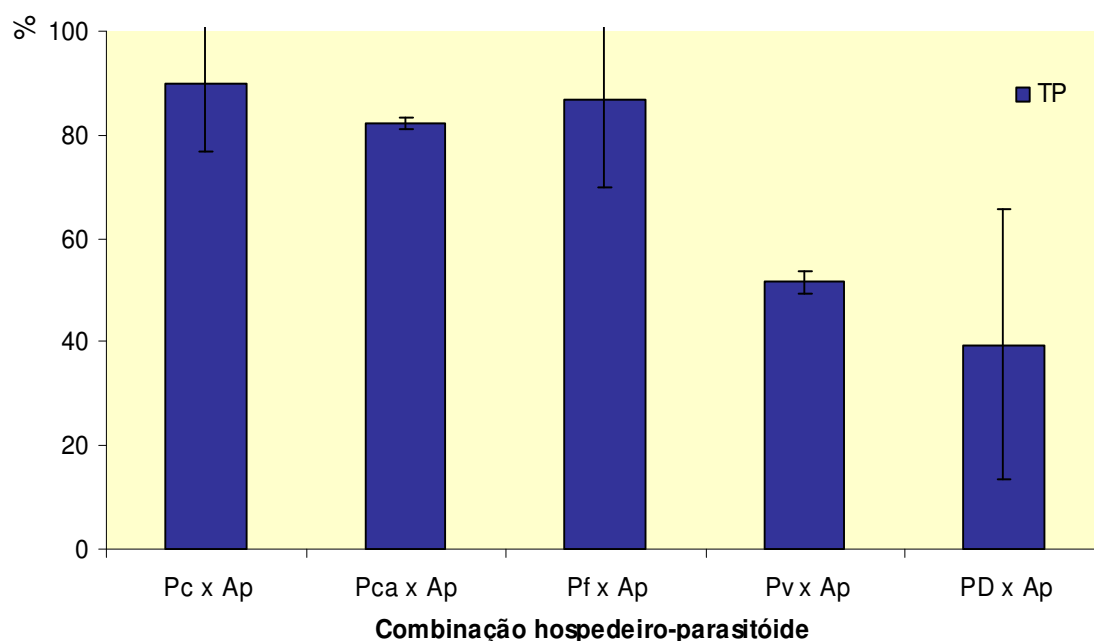


Fig. 22 - Valores de taxa de parasitismo de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) observados nas cinco combinações hospedeiro-parasitóide estudadas: “Pc x Ap” = *Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pca x Ap” = *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pf x Ap” = *Planococcus ficus* (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pv x Ap” = *Pseudococcus viburni* (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “PD x Ap” = *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007).

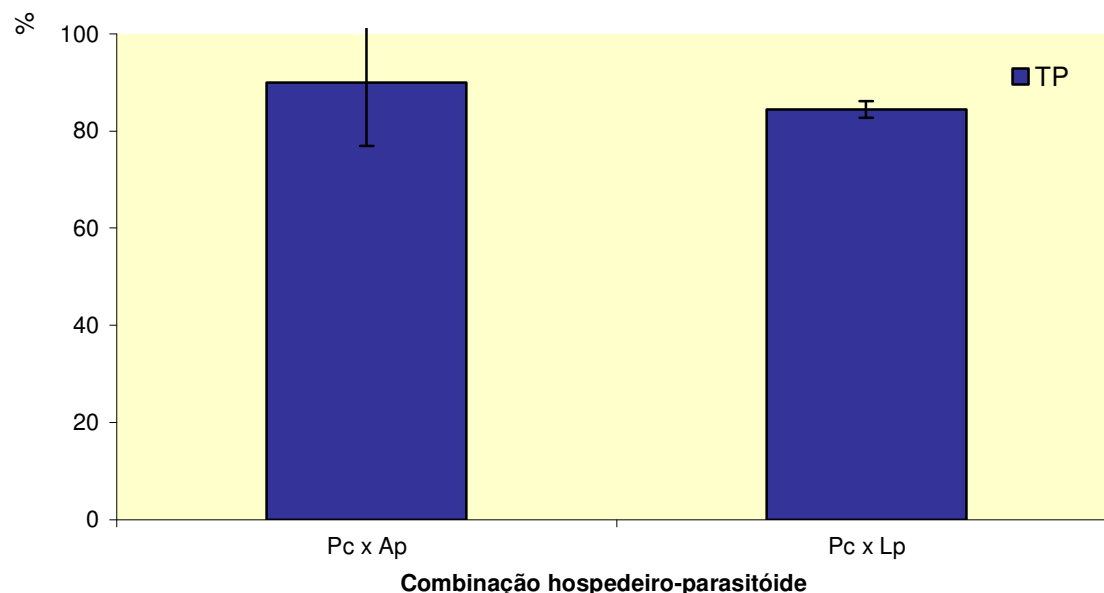


Fig. 23 - Valores de taxa de parasitismo observados nas combinações hospedeiro-parasitóide estudadas de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae). (“Pc x Ap” = *Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007); “Pc x Lp” = *Planococcus citri* (Risso) x *Leptomastix dactylopii* Howard).

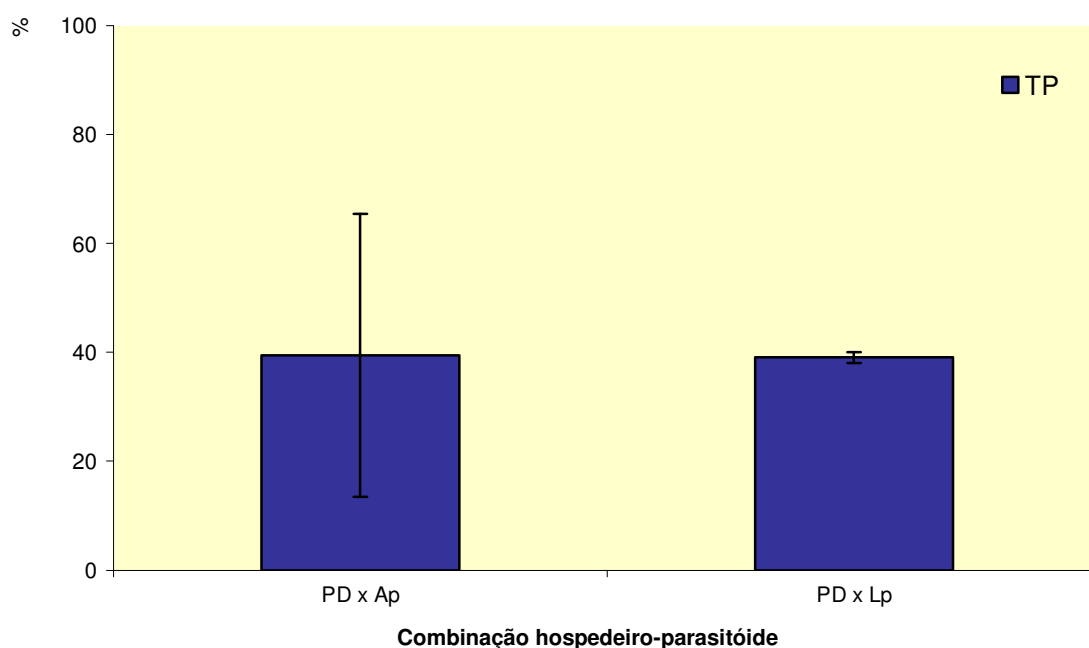


Fig. 24 - Valores de taxa de parasitismo de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) observados em *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae): “PD x Ap” = *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)).

Verificaram-se diferenças significativas ($F_{2,33}=6,61$; $p=0,004$) na taxa de parasitismo de *A.* sp. nov. próx. *pseudococci* nas três espécies de cochonilhas que foram sujeitas a tratamento estatístico (**Quadro 20**) e, neste parâmetro, também se verificaram diferenças significativas ($t_{11}=2,57$; $p=0,018$) entre os dois parasitóides estudados em *P. citri* (**Quadro 21**).

Não se verificaram diferenças significativas ($t_{11}=0,15$; $p=0,882$) na taxa média de parasitismo entre *A.* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *L. dactylopii* quando parasitaram *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (**Quadro 22**).

Quadro 20 - Taxa média (\pm erro padrão) de parasitismo relativa às combinações entre os hospedeiros *Planococcus citri* (Risso), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) e *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o parasitóide *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae).

Hospedeiro	Média \pm EP
<i>P. citri</i>	0,90 \pm 0,01 b
<i>P. calceolariae</i>	0,82 \pm 0,01 a
<i>P. ficus</i>	0,87 \pm 0,02 ab

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p=0,05$).

Quadro 21 - Taxa média (\pm erro padrão) de parasitismo e parâmetros estatísticos relativos às combinações entre *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Média \pm EP
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	0,90 \pm 0,01 b
<i>L. dactylopii</i>	0,84 \pm 0,02 a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p = 0,05$).

Quadro 22 - Taxa média (\pm erro padrão) de parasitismo relativa às combinações entre *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae) e os parasitóides *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007) e *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae).

Parasitóide	Média \pm EP
<i>A. sp. nov. próx. pseudococci</i>	0,40 \pm 0,03 a
<i>L. dactylopii</i>	0,39 \pm 0,01 a

Nota: as médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem significativamente entre si (Teste t de Student, $p = 0,05$).

V. Discussão

Os diferentes critérios adoptados para a observação da encapsulação poderão estar na origem de disparidades entre resultados obtidos por diversos autores. Quando se pretende comparar resultados de diferentes estudos, existem várias questões pertinentes a considerar, nomeadamente, em que situações se deverão considerar encapsulados os ovos, a encapsulação nas cochonilhas-algodão envolverá sempre melanização ou não, e, caso a resposta seja negativa, como se processa a encapsulação dos ovos na ausência de melanização.

No presente estudo, optou-se por considerar que, neste tipo de hospedeiros, a encapsulação envolve sempre a acumulação de melanina em redor dos ovos do parasitóide.

Analisando os dados obtidos no que concerne à oviposição de *A. sp. nov. próx. pseudococci* nos hospedeiros estudados verifica-se que a situação predominante é a de posturas solitárias, excepto em *P. calceolariae*, onde o superparasitismo prevalece (**Fig. 17**). A predominância de posturas solitárias sugere que *A. sp. nov. próx. pseudococci* está adaptado fisiologicamente a estes hospedeiros, comportando-se como um parasitóide principal (Blumberg et al. 2001).

Os parasitóides principais exibem ausência ou baixa taxa de superparasitismo, uma vez que o superparasitismo é uma adaptação a hospedeiros pouco adequados (**Cap. II**). Segundo Blumberg (2003), *A. pseudococci* s.l. apresenta, relativamente a *P. citri*, um padrão de distribuição de ovos caracterizado por elevada taxa de superparasitismo, em que a grande maioria dos hospedeiros (80%, em certos casos) apresenta dois ou mais ovos. Os resultados obtidos no presente estudo com *P. citri* não são coincidentes com os de Blumberg (2003), tendo-se registado predominância de ovos solitários, com uma taxa média de superparasitismo de 26%. Estes resultados sugerem a hipótese da população de *A. sp. nov. próx. pseudococci* utilizada no presente estudo poder estar mais adaptada fisiologicamente a *P. citri* do que as populações estudadas por Blumberg (2003) ou mesmo poder tratar-se de espécies diferentes, de acordo com o proposto por Triapitsyn et al. (2007). Uma melhor clarificação da identidade de *A. pseudococci* s.l., nomeadamente no que respeita às duas espécies propostas por Triapitsyn et al. (2007), *Anagyrus pseudococci* (Girault) e *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (Girault), poderá contribuir para esclarecer esta problemática (Franco et al. 2008).

Por outro lado, sabe-se que as fêmeas de *A. pseudococci* s.l. preferem efectuar a postura em terceiros instares (67,8% de parasitismo) e jovens fêmeas, do que em

cochonilhas adultas (6,6% de parasitismo) (Chandler et al. 1980), talvez devido ao sistema imunitário não se encontrar tão desenvolvido. O facto de no presente estudo se terem utilizado jovens fêmeas, poderá ter influenciado o padrão de distribuição dos ovos de *A. sp. nov. próx. pseudococci*. É de esperar uma taxa de superparasitismo mais elevada no caso dos parasitóides serem expostos a cochonilhas adultas de maiores dimensões, em que o sistema de defesa imunitária se encontra totalmente desenvolvido, com maior capacidade de encapsulação dos ovos do parasitóide, comparativamente com uma exposição a ninfas ou fêmeas jovens (**Cap. II**).

A taxa de superparasitismo mais elevada observada em *P. calceolariae* (**Quadro 5**) sugere que *A. sp. nov. próx. pseudococci* é um parasitóide accidental desta cochonilha-algodão.

No entanto, é preciso ter em consideração que em condições não naturais, como é o caso dos ensaios laboratoriais, poderá observar-se uma taxa de superparasitismo mais elevada. De facto, os parasitóides que atacam os pseudococcídeos comportam-se de forma diferente em condições naturais, actuando como parasitóides predominantemente solitários cujo superparasitismo é pouco frequente (Blumberg et al. 2001). Daqui advém a necessidade de complementar os ensaios laboratoriais realizados com ensaios de campo, de molde a melhor compreender a interacção entre hospedeiro e parasitóide.

Em todas as combinações parasitóide-hospedeiro estudadas verificaram-se emergências o que evidencia a adequabilidade dos hospedeiros, nas situações em que não ocorre encapsulação, para o desenvolvimento completo dos parasitóides.

O padrão de distribuição do número de ovos de *A. sp. nov. próx. pseudococci* postos por hospedeiro depende da espécie de hospedeiro, tendo-se observado diferenças significativas em *P. citri* e *P. calceolariae* e em *P. citri* e *P. ficus*. Estes dados sugerem que as fêmeas de *A. sp. nov. próx. pseudococci* conseguem avaliar a adequabilidade fisiológica de cada hospedeiro e alterar o seu padrão de postura de acordo com o nível de resistência do hospedeiro.

Comparando os dados dos ensaios, *A. sp. nov. próx. pseudococci* versus *L. dactylopii* em *P. citri* e em *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* observa-se um padrão de oviposição idêntico para ambas as espécies de parasitóides, mas diferente consoante o hospedeiro. A taxa de superparasitismo em *P. citri* é inferior a 30% (**Fig. 18**) e em *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* é nula. Estes dados vêm reforçar a ideia de que as fêmeas dos parasitóides conseguem avaliar a adequabilidade fisiológica de cada hospedeiro e alterar o seu padrão de postura de acordo com o hospedeiro.

No que respeita ao número médio de ovos de *A. sp. nov. próx. pseudococci* por hospedeiro e ao número de ovos encapsulados por hospedeiro, registaram-se diferenças

significativas, sendo a proporção de ovos encapsulados superior em *P. calceolariae* (**Quadro 9**).

A intensidade do processo de encapsulação é determinada por um factor directamente dependente do número de ovos postos no hospedeiro pela fêmea do parasitóide. Este factor estará, possivelmente, associado à superfície dos ovos, funcionando, tal como já evidenciado noutras espécies (**Cap. II**), no processo de reconhecimento pelo sistema de defesa do hospedeiro, conduzindo ao aumento da produção de hemócitos que está na base do processo de encapsulação celular.

No caso de *A. pseudococci* s.l., não se encontram documentados mecanismos de evasão ou supressão do sistema imunitário dos hospedeiros, como injeção de veneno ou outras substâncias do fluído do cálice, vírus simbiotes, localização ou embebedimento dos ovos em certos tecidos, mimetismo, etc. (**Cap. II**). Blumberg et al. (2001) sugerem que o superparasitismo pode ser uma estratégia para escapar a encapsulação. No entanto, é preciso ter em conta que os estudos realizados por estes autores foram efectuados com múltiplas fêmeas de *Anagyrus* por unidade experimental, sendo necessários mais estudos para testar a hipótese da situação de oviposição de mais de um ovo por hospedeiro se dever a um único acto de postura, como seria de esperar no caso do superparasitismo ser uma estratégia adaptativa, ou, apenas, o resultado de múltiplas posturas pela mesma ou diferentes fêmeas. Por outro lado, os ovos podem ser todos postos ao mesmo tempo ou podem ser apenas resultado da falta de hospedeiros adequados, uma vez que há sempre cochonilhas que não são parasitadas, talvez por não serem adequadas ao desenvolvimento dos parasitóides. As decisões tomadas pelas fêmeas dos parasitóides, por exemplo, que hospedeiros parasitar, qual o instar do hospedeiro a seleccionar para a oviposição, colocar um ou mais ovos, efectuar a oviposição de um ovo fêmea (fertilizado) ou de um ovo macho (não fertilizado), vão afectar a encapsulação dos ovos.

A taxa de parasitismo variou entre espécies (**Fig. 22**), tendo-se observado taxas de parasitismo superiores em *P. citri*, *P. calceolariae* e *P. ficus* e taxas mais baixas em *P. viburni* e *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. Estes resultados sugerem que estas últimas espécies de cochonilhas são hospedeiros acidentais ou secundários, uma vez que, mesmo em condições de laboratório, as fêmeas do parasitóide rejeitaram grande parte dos hospedeiros disponíveis para efectuar a postura, apesar de, no caso de *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp., serem aparentemente adequados em termos fisiológicos, devido à baixa taxa de encapsulação. Situação oposta parece existir no caso de *P. calceolariae*, com elevada taxa de parasitismo, associada a uma elevada taxa de encapsulação.

De igual modo, verificaram-se diferenças significativas na encapsulação agregada entre as espécies estudadas (**Quadro 11**). As cochonilhas onde se observaram taxas de

encapsulação agregada mais elevadas foram as cochonilhas pertencentes ao género *Pseudococcus* (*P. viburni* e *P. calceolariae*) (**Fig. 19**).

Comparando a encapsulação de *A. sp. nov. pseudococci* e *L. dactylopii* em *P. citri*, não se verificaram diferenças entre os dois parasitóides, tendo-se observado taxas de encapsulação relativamente baixas (**Fig. 20**). Os dados de encapsulação de *L. dactylopii* observados em *P. citri* não estão de acordo com estudos anteriores realizados por Blumberg et al. (2001), que registaram taxas de encapsulação nulas. Tal facto poderá dever-se a diferenças entre populações do parasitóide. No caso de *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.*, a encapsulação de *L. dactylopii* foi nula (**Fig. 21**), o que se poderá dever ao facto de se tratarem de espécies exóticas, com origens distintas, sem relação co-evolutiva.

Através da análise dos dados relativos à encapsulação efectiva relativa pode-se verificar a existência de diferenças significativas entre as diferentes combinações estudadas (**Quadro 15**), tendo-se que *P. ficus* difere de *P. citri* e de *P. calceolariae*. Este índice constitui, de certo modo, o indicador da eficiência do hospedeiro em termos de resistência ao parasitismo, uma vez que nos dá a proporção de hospedeiros capazes de encapsular todos os ovos do parasitóide, e deste modo prevenir o seu desenvolvimento, relativamente ao total de hospedeiros capazes de encapsular ovos.

Apesar de *A. sp. nov. pseudococci* ser capaz de completar o seu desenvolvimento em qualquer das espécies hospedeiras estudadas, verificaram-se diferentes taxas de mortalidade de parasitóides devidas à encapsulação, o que indica diferente adequação dos hospedeiros para o desenvolvimento do parasitóide. As espécies *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* e *P. ficus* demonstraram ser as mais adequadas para o desenvolvimento bem sucedido de *A. sp. nov. pseudococci* pois apresentam taxas de encapsulação agregada relativamente baixas, isto é, 7% e 39%, respectivamente, quando comparadas com mais de 50% em *P. citri* e mais de 80% em *P. calceolariae* e *P. viburni*.

No entanto, a adequabilidade fisiológica de um hospedeiro para o desenvolvimento do parasitóide não é o único aspecto a ter em consideração num programa de protecção biológica, sendo necessário avaliar também a adequabilidade do hospedeiro em condições de campo, isto é, o parasitóide terá de ser capaz de localizar de forma eficiente o hospedeiro e aceitá-lo para oviposição. Esta questão é particularmente relevante no caso das cochonilhas-algodão das proteáceas, nas quais se verificou uma taxa de parasitismo, em condições de laboratório, relativamente baixa, o que sugere uma baixa aceitação destas cochonilhas como hospedeiro.

Blumberg et al. (2001), com base nos níveis de encapsulação e superparasitismo, consideraram a existência de quatro grupos relativamente ao grau de adaptabilidade fisiológica na relação parasitóide-hospedeiro (**Quadro 23**). Segundo estes autores, a associação do grupo I corresponde a parasitóides principais e aos hospedeiros mais

adequados para o seu desenvolvimento. Os grupos II e III incluem associações de parasitóides acidentais e hospedeiros inadequados. Por fim, o grupo IV consiste na associação entre parasitóides possivelmente não principais e hospedeiros com adequação intermédia ao seu desenvolvimento. Blumberg et al. (2001) sugeriram que as baixas taxas de encapsulação estariam associadas a cochonilhas atacadas por parasitóides principais, em que parasitóide e hospedeiro teriam origem semelhante. Por outro lado, as elevadas taxas de encapsulação estariam associadas a parasitóides acidentais, com origem distinta da do hospedeiro. Contudo, aqueles autores alertam para a possibilidade de, também, poderem ocorrer baixas taxas de encapsulação e novas associações parasitóide-hospedeiro, quando o hospedeiro é uma espécie relacionada com o respectivo hospedeiro principal.

Blumberg et al. (2001) incluíram a associação *A. pseudococci* s.l. - *P. citri* no grupo IV, por considerarem que *A. pseudococci* s.l. apresenta adaptabilidade fisiológica intermédia em relação a *P. citri* e recorre ao superparasitismo como forma de superar as defesas do hospedeiro, não sendo provavelmente um parasitóide principal de *P. citri*.

Quadro 23 - Caracterização da relação parasitóide-hospedeiro com base nos níveis de encapsulação (encapsulação agregada, EA, e encapsulação efectiva, EE) e superparasitismo (SP) (adaptado de Blumberg et al. 2001).

Grupo	Caracterização do grupo			Caracterização do parasitismo
	EA	EE	SP	
I	Baixa	Baixa	Baixo	Elevada adaptabilidade fisiológica
II	Elevada	Elevada	Baixo	Ausência ou baixa adaptabilidade fisiológica
III	Elevada	Elevada	Elevado	Pobre ou baixa adaptabilidade fisiológica; tentativa, sem êxito, de reduzir a encapsulação efectiva, aumentando o superparasitismo
IV	Elevada	Baixa	Elevado	Adaptabilidade fisiológica intermédia; redução, com êxito, da encapsulação efectiva, aumentando o superparasitismo

Alguns dos resultados obtidos no presente trabalho não corroboram, no entanto, o modelo proposto por Blumberg et al. (2001). Assim, por exemplo, a muita baixa taxa de encapsulação registada entre *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. e *A. sp. nov. pròx. pseudococci* (**Quadros 14 e 17**) sugeriria, de acordo com aquele modelo, tratar-se de uma associação do grupo I. Contudo, a relativamente baixa taxa de parasitismo observada em condições de laboratório (**Quadro 22**) sugere que o parasitóide rejeitou a maior parte dos hospedeiros disponíveis, apesar de serem fisiologicamente adequados ao seu

desenvolvimento, comportamento que não é de esperar num parasitóide principal. Por outro lado, é pouco provável que, nesta associação, parasitóide e hospedeiro tenham a mesma região de origem. De facto, enquanto que *A. pseudococci* s.l se admite ser originária da região Mediterrânea (Blumberg et al., 2001), *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. têm origem provável na região Sul-africana (JC Franco comun. pess. 2008). Ou seja, ao contrário do previsto pelo modelo de Blumberg et al. (2001), a associação *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. e *A. sp. nov. próx. pseudococci*, apesar de apresentar uma muito baixa taxa de encapsulação, corresponde muito possivelmente a uma nova associação parasitóide-hospedeiro, para além de que estas cochonilhas não estão relacionadas com o hospedeiro principal deste parasitóide, isto é, *P. ficus* (Franco et al. 2008).

A associação *P. ficus* e *A. sp. nov. próx. pseudococci* registou uma taxa de encapsulação agregada de 39%, uma taxa de encapsulação efectiva de 24% e uma taxa de superparasitismo de 25% (**Quadros 5, 12 e 15**). De acordo com o modelo de Blumberg et al. (2001), este padrão aproxima-se das características definidas para o grupo IV, correspondente a parasitóides não principais. Contudo, a elevada taxa de parasitismo e os resultados obtidos por Franco et al. (2008) sugerem tratar-se de uma associação parasitóide-hospedeiro com uma longa história de co-evolução na mesma região de origem.

Em termos evolutivos, a interacção parasitóide-hospedeiro corresponde a um processo de co-evolução antagonista do tipo trófico (Kniskern & Rausher 2001). O hospedeiro pode defender-se do parasitóide desenvolvendo mecanismos de resistência. Por sua vez, o parasitóide pode ultrapassar os mecanismos de resistência do hospedeiro, através de mecanismos que aumentam a sua virulência. Como resultado, a cada sistema genético de resistência no hospedeiro corresponde um sistema genético de virulência no parasitóide, de modo semelhante ao modelo “gene-a-gene”. Experimentalmente verificou-se que as associações parasitóide-hospedeiro que interagiram durante maiores períodos de tempo são as que se apresentam mais co-adaptadas (Renaud et al. 1996). À luz destes dados, o grupo IV do modelo proposto por Blumberg et al. (2001) corresponderia às associações com maior nível de co-adaptação (resistência intermédia do hospedeiro, à qual o parasitóide responde através do superparasitismo), pressupondo, pois, um longo processo de co-evolução. De acordo com esta nova perspectiva, este grupo incluiria parasitóides principais, correspondentes, não só, a associações em que parasitóide e hospedeiro têm a mesma origem (por exemplo, *P. ficus* e *A. sp. nov. próx. pseudococci*), mas também, a associações mais recentes, que, não obstante a origem ser distinta, apresentam já um longo processo de co-evolução. Um exemplo desta última associação é possivelmente o caso de *P. citri* e *A. sp. nov. próx. pseudococci* na região Mediterrânea.

Por outro lado, é pouco provável que as associações correspondentes ao grupo I, em que as taxas de encapsulação são muito baixas ou nulas (caso de *Paracoccus* sp./*Delottococcus* sp. com *A. sp. nov. próx. pseudococci* e *L. dactylopii*), constituam situações de co-adaptação, decorrentes de um longo processo de co-evolução, em que seria de esperar maior nível de resistência do hospedeiro. É, pois, mais consistente a hipótese de se tratar de associações parasitóide-hospedeiro relativamente recentes. Aparentemente, os genótipos “virulentos” destes parasitóides possuem elicitores que não são reconhecidos pelos receptores do hospedeiro. Consequentemente, o processo de encapsulação não é induzido (Kniskern & Rausher 2001).

VI. Conclusões

A espécie de hospedeiro é um factor que afectou o padrão de oviposição e a encapsulação dos ovos de *A. sp. nov. próx. pseudococci* e *L. dactylopii*

As baixas taxas de superparasitismo observadas em *P. citri* e *P. ficus* sugerem que *A. sp. nov. próx. pseudococci* está adaptado fisiologicamente a estes hospedeiros, comportando-se como um parasitóide principal.

As taxas elevadas de superparasitismo observadas em *P. calceolariae* podem representar uma estratégia activa do parasitóide para diminuir a encapsulação efectiva, sugerindo que *A. sp. nov. próx. pseudococci* não é um parasitóide principal desta cochonilha-algodão.

As espécies de parasitóides estudadas foram capazes de modificar o padrão de distribuição dos ovos de acordo com a espécie de hospedeiro, o que sugere que as fêmeas são capazes de avaliar o nível de resistência do hospedeiro e decidir o número de ovos a por em função disso. Tal comportamento pode manifestar-se quando utilizam uma nova espécie de hospedeiro.

O padrão de distribuição do número de ovos de *A. sp. nov. próx. pseudococci* é, aparentemente, dependente da espécie do hospedeiro e do seu nível de resistência. Todavia, será necessária a realização de estudos mais aprofundados, tanto no padrão de oviposição de *A. sp. nov. próx. pseudococci*, como no nível de encapsulação nas cochonilhas-algodão, de forma a esclarecer as dúvidas existentes.

A intensidade do processo de encapsulação, traduzida no número de ovos encapsulados por hospedeiro, poderá ser determinada por um factor directamente dependente do número de ovos postos nas cochonilhas-algodão pela fêmea de *A. sp. nov. próx. pseudococci* e, por conseguinte, influenciada pelas decisões individuais tomadas por cada fêmea do parasitóide.

A taxa de parasitismo variou entre espécies, tendo-se observado taxas de parasitismo superiores em *P. citri*, *P. calceolariae* e *P. ficus* e taxas mais baixas em *P. viburni* e *Paracoccus sp./ Delottococcus sp.* Estes resultados sugerem que estas últimas espécies de cochonilhas são hospedeiros acidentais ou secundários.

Verificaram-se diferenças significativas na encapsulação agregada e na encapsulação efectiva, entre as espécies estudadas de hospedeiro e parasitóide. Considerando todos os ovos encapsulados, verifica-se que a encapsulação agregada foi superior na associação *P. calceolariae* x *A. sp. nov. próx. pseudococci* e nula nas associações com as cochonilhas das proteáceas.

A associação *Paracoccus* sp./ *Delottococcus* sp. e *A. sp. nov. próx. pseudococci*, apesar de apresentar uma muito baixa taxa de encapsulação, corresponde muito possivelmente a uma nova associação parasitóide-hospedeiro.

A cochonilha-algodão *P. calceolariae* revela uma capacidade de encapsulação, tanto agregada como efectiva, elevada, o que sugere que este hospedeiro é fisiologicamente inadequado ao desenvolvimento de *A. sp. nov. próx. pseudococci*. Assim, conclui-se que este parasitóide não deverá ser utilizado em programas de protecção biológica contra esta cochonilha-algodão.

Os resultados obtidos sugerem que o parasitóide *A. sp. nov. próx. pseudococci* poderá ser utilizado em programas de protecção biológica contra as restantes cochonilhas-algodão estudadas (*P. citri*, *P. ficus*, *P. viburni*, *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp.).

O número médio de ovos e larvas de *A. sp. nov. próx. pseudococci* por hospedeiro e o número de ovos e larvas encapsuladas por hospedeiro diferiram significativamente entre as associações testadas.

Relativamente à eficiência dos dois parasitóides, *A. sp. nov. próx. pseudococci* e *L. dactylopii*, não se observaram diferenças significativas nos parâmetros estudados. No entanto, será preferível a utilização em programas de protecção biológica de *A. sp. nov. próx. pseudococci* uma vez que se trata de um parasitóide autóctone. Pelo contrário, *L. dactylopii*, parasitóide indígena do Brasil, é incapaz de sobreviver aos nossos Invernos, o que implicaria a realização todos os anos de largadas inundativas.

VII. Referências bibliográficas

- Agrios GN (1997) Plant Pathology. 4th ed, Academic Press, San Diego, 635 pp
- Alleyne M & Wiedenmann RN (2001) Encapsulation and hemocyte numbers in three lepidopteran stemborers parasitized by *Cotesia flavipes*-complex endoparasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 100 (3): 279-293
- Alleyne M & Wiedenmann RN (2002) Effect of time in culture on the suitability of two novel-association pyralid hosts for *Cotesia sesamiae* (Hymenoptera: Braconidae) development. *Biological Control* 25 (2): 116-122
- Alleyne M, Wiedenmann RN & Diaz RR (2001) Quantification and development of teratocytes in novel-association host-parasitoid combinations. *Journal of Insect Physiology* 47 (12): 1419-1427
- Amaya KE, Asgaric S, Jung R, Hongskula M & Beckage NE (2005) Parasitization of *Manduca sexta* larvae by the parasitoid wasp *Cotesia congregata* induces an impaired host immune response. *Journal of Insect Physiology* 51: 505–512
- Asgari S, Schimdt O & Theopold U (1997) A polidnavirus-encoded protein of an endoparasitoid wasp in an immune suppressor. *Journal of General Virology* 78 (11): 3061-3070
- Asgari S, Theopold U, Wellby C & Schimdt O (1998) A protein with protective proprieties against the cellular defense reactions in insects. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 3690-3695
- Askew RR & Shaw MR (1986) Parasitoid communities: their size, structure and development. In: Waage J & Greathead D (eds) *Insect parasitoids*. Academic Press, London, pp 225-264
- Bauer E, Trenczek T & Dorn S (1998) Instar-dependent hemocyte changes in *Pieris brassicae* after parasitization by *Cotesia glomerata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88 (1): 49-58
- Beckage NE (1998) Parasitoids and polydnaviruses. *Bioscience*, 48 (4): 305-311
- Benassi V, Frey F & Carton Y (1998) A new specific gene for wasp cellular immune resistance in *Drosophila*. *Heredity* 80: 347-352
- Ben-Dov Y, Miller DR & Gibson GAP (2008). ScaleNet: A Database of the Scale Insects of the World. Online em <http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm> [consultado em Outubro 2008]
- Bennett FD (1981) Hyperparasitism in the practice of biological control. In: Rosen D (ed) *The Role of Hyperparasitism in Biological Control: a Symposium*. Division of Agricultural Sciences, University of California, Publication 4103, pp 43-49
- Berg R, Schuchmann-Feddersen I & Schmidt O (1988) Bacterial infection induces a moth (*Ephestia kühniella*) protein which has antigenic similarity to virus-like particle proteins of a parasitoid wasp (*Venturia canescens*). *Journal of Insect Physiology* 34 (6): 473-480
- Blumberg D (1976) Extreme temperatures reduce encapsulation of insect parasitoids in their insect hosts. *Separatum Experimentia* 32: 1396-1397
- Blumberg D (1977) Encapsulation of parasitoid eggs in soft scales (Homoptera: Coccidae). *Ecological Entomology* 2: 185-192
- Blumberg D (1982) Further studies of the encapsulation of *Metaphycus swirskii* by soft scales. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 31: 245-248

- Blumberg D (1988) Encapsulation of eggs of the encyrtid wasp, *Metaphycus swirski*, by the hemispherical scale, *Saissetia coffeae*: Effects of host age and rearing temperature. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47: 95-99
- Blumberg D (1989) Encapsulation as a defense mechanism of insect against parasitoids, and its importance in biological control of insect pests. *Israel Agrosearch* 3: 1-2
- Blumberg D (1990) Host resistance: encapsulation of parasites. In: Rosen D (ed) *The armored scale insects, their biology, natural enemies and control*. Vol B. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands, pp 221-228
- Blumberg D (1991a) Seasonal variations in the encapsulation of *Metaphycus stanleyi* by the pyriform scale, *Protopulvinaria pyriformis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 58: 231-237
- Blumberg D (1991b) The pyriform scale, *Protopulvinaria pyriformis*, and its common parasitoid, *Metaphycus stanleyi*, on avocado and *Hedera helix*. *Alon Hanotea* 45 (4): 265-269
- Blumberg D (1997a) Encapsulation of Parasitoids. In: Ben-Dov Y& Hodgson CJ (eds) *Soft scale Insects – their biology, natural enemies and control*. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands, pp 375-387
- Blumberg D (1997b) Parasitoid encapsulation as a defense mechanism in the Coccoidae (Homoptera) and its importance in biological control. *Biological Control* 8: 225-236
- Blumberg D (2003) Encapsulation of parasitic wasps by scale insects and its physiological and ecological significance. *Seminário, Lisboa, ISA, 18 Out 2003*
- Blumberg D & DeBach P (1981) Effects of temperature and host age upon the encapsulation of *Metaphycus stanleyi* and *Metaphycus helvolus* eggs by Brown soft scale *Coccus hesperidum*. *Journal of Invertebrate Pathology* 37: 73-79
- Blumberg D & Swirski E (1984) Response of three soft scales (Homoptera: *Coccidae*) to parasitization by *Metaphycus Swirskii*. *Phytoparasitica* 12 (1): 29-35
- Blumberg D & Luck RF (1990) Differences in the rates of superparasitism between two strains of *Comperiella bifasciata* (Howard) (Hymenoptera Encyrtidae) parasitizing California red scale (Homoptera: Diaspididae): an adaptation to circumvent encapsulation? *Entomological Society of America* 83 (3): 591-597
- Blumberg D & Goldberg S (1992) Encapsulation of eggs of two species of *Encyrtus* (Hymenoptera: Encyrtidae) by soft scales (Homomptera: Coccidae) in six parasitoid-host Interactions. *Israel Journal of Entomology* Vol. XXV-XXVI: 57-65
- Blumberg D & Van Driesche RG (2001) Encapsulation rates of three Encyrtid Parasitoids by three Mealybug species (Homoptera: Pseudococcidae) found commonly as pests in commercial greenhouses. *Biological Control* 22: 191-199
- Blumberg D, Klein M & Mendel Z (1995) Response by encapsulation of four Mealybug Species (Homoptera: Pseudococcidae) to parasitization by *Anagyrus pseudococci*. *Phytoparasitica* 23 (2): 157-163
- Blumberg D, Franco JC, Suma P, Russo A, Mendel Z & Pellizzari G (2001) Parasitoid encapsulation in mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) as affected by the host-parasitoid association and superparasitism. *Bollettino di Zoologia Agrária e di Bachicoltura* 33 (3): 385-395

- Çalisir S, Kaydan MB & Ülgentürk S (2005) Some biological aspect of *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) on different ages of *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae). *Journal of Agriculture Science* 11: 434-441
- Carton Y & Nappi AJ (1991) The *Drosophila* immune reaction and the parasitoid capacity to evade it: genetic and coevolutionary aspects. *Acta Oecologica* 12 (1): 89-104
- Carton Y, Frey F & Nappi AJ (1997) *Drosophila* cellular immunity against parasitoids. *Pathology Today* 13: 218-227
- Carton Y, Nappi AJ & Poirié M (2005) Genetics of antiparasite resistance in invertebrates. *Developmental & Comparative Immunology* 29: 9-32
- Chandler LD, Meyerdirk DE, Hart WG & Garcia RG (1980) Laboratory studies on the development of the parasite *Anagyrus pseudococci* (Girault) on insectary-reared *Planococcus citri* (Risso). *Southwest Entomology* 5: 99-103
- Chang BS, Yoe SM, Kim WK & Moon MJ (1991) Electron microscope study on the hemocyte immune responses to foreign substances in insects. II. Encapsulation. *Korean Journal of Entomology* 21 (3): 119-131
- Corley LS & Strand MR (2003) Evasion of encapsulation by the polyembryonic parasitoid *Copidosoma floridanum* is mediated by a polar body-derived extraembryonic membrane. *Journal of Invertebrate Pathology* 83 (1): 86-89
- Cox-Foster DL & Stehr JE (1994) Induction and localization of FAD-glucose dehydrogenase (GLD) during encapsulation of abiotic implants in *Manduca sexta* larvae. *Journal of Insect Physiology* 40 (3): 235-249
- Daane KM, Malakar-Kuenen RD & Walton VM (2004) Temperature-dependent development of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) as a parasitoid of the vine mealybug, *Planococcus ficus* (Homoptera: pseudococcidae). *Biological Control* 31: 123-132
- Dahlman DL (1990) Evaluation of teratocyte functions: an overview. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 13: 159-166
- Dahlman DL & Vinson SB (1993) Teratocytes: developmental and biochemical characteristics. In: Beckage NE, Thompson SN & Federici BA (eds) *Parasites and pathogens of insects*. Vol. 1: Parasites. Academic Press, New York, pp 145-165
- Davies DH & Vinson SB (1986) Passive evasion by eggs of Braconid parasitoid *Cardiochiles nigriceps* of encapsulation in vitro by hemocytes of host *Heliothis virescens*. Possible role of fibrous layer in immunity. *Journal of Insect Physiology* 32: 1003-1010
- Davies DH & Vinson SB (1988) Interference with function of plasmatocytes of *Heliothis virescens* in vivo by calyx fluid of the parasitoid *Campoletis sonorensis*. *Cell and Tissue Research* 251 (2): 467-475
- Dong K, Zhang D & Dahlman DL (1996). Down-regulation of juvenile hormone esterase and arylphorin production in *Heliothis virescens* larvae parasitized by *Microplitis croceipes*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 32: 237-248
- Dorn S & Beckage NE (2007) Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. *Physiological Entomology* 32: 199-211

- Doucet D & Cusson M (1996) Role of calyx fluid in alterations of immunity in *Choristoneura fumiferana* larvae parasitized by *Tranosema rostrale*. *Comparative Biochemistry and Physiology A, Physiology* 114 (4): 311-317
- Doutt RL (1961) The dimensions of endemism. *Annals of the Entomological Society of America* 54: 46-53
- Dupas S, Frey F & Carton Y (1998) A single parasitoid segregating factor controls immune suppression in *Drosophila*. *Journal of Heredity* 89 (4): 306-311
- Ehler LE (1982) Ecology of *Rhopalomyia californica* Felt (Diptera: Cecidomyiidae) and its parasites in urban environment. *Hilgardia* 50: 1-32
- Ehler LE (1990) Introduction strategies in biological control of insects. In: Mackauer M, Ehler LE & Roland J (eds) *Critical issues in biological control*. Intercept, Andover, pp 111-134
- Ehler LE (1992) Guild analysis in biological control. *Environmental Entomology* 21: 26-40
- Ehler LE (1994) Parasitoid communities, parasitoid guilds, and biological control. In: Hawkins BA & Sheehan W (eds) *Parasitoid community ecology*. Oxford University Press, Oxford, pp 418-436
- Ehler LL & Hall RW (1982) Evidence for competitive exclusion of introduced natural enemies in biological control. *Environmental Entomology* 11: 1-4
- Embree DG (1966) The role of introduced parasites in the control of winter moth in Nova Scotia. *Canadian Entomologist* 98: 1159-1168
- Eslin P & Prevost G (1996) Variation in *Drosophila* concentration of haemocytes associated with different ability to encapsulate *Asobara tabida* larval parasitoid. *Journal of Insect Physiology* 42 (6): 549-555
- Eslin P & Prevost G (2000) Racing against host's immunity defenses: a likely strategy for passive evasion of encapsulation in *Asobara tabida* parasitoids. *Journal of Insect Physiology* 46 (8): 1161-1167
- Eslin P, Prevost G & Lanzrein B (1998) Hemocyte load and immune resistance to *Asobara tabida* are correlated in species of the *Drosophila melanogaster* subgroup. *Journal of Insect Physiology* 44 (9): 807-816
- Eslin P, Giordanengo P, Fourdrain Y & Prevost G (1996) Avoidance of encapsulation in the absence of VLP by a braconid parasitoid of *Drosophila* larvae: an ultrastructural study. *Canadian Journal of Zoology* 74 (12): 2193-2198
- Fedderson I, Sander K & Schmidt O (1986) Virus-like particles with host protein-like antigenic determinants protect an insect parasitoid from encapsulation. *Experientia* 42: 1278-1281
- Federici BA (1991) Viewing polydnaviruses as gene vectors of endoparasitic Hymenoptera. *Redia* 74 (3): Appendix 387-392
- Fellowes MDE & Godfray HCJ (2000) The evolutionary ecology of resistance to parasitoids by *Drosophila*. *Heredity* 84 (1): 1-8
- Fellowes MDE, Kraaijeveld AR & Godfray HCJ (1999) The relative fitness of *Drosophila melanogaster* (Diptera, Drosophilidae) that have successfully defended themselves against the parasitoid *Asobara tabida* (Hymenoptera, Braconidae). *Journal of Evolutionary Biology* 12 (1): 123-128
- Force DC (1974) Ecology of insect host-parasitoid communities. *Science* 184: 624-632

- Franco JC (1997) Contribuição para a protecção integrada em citrinos: caso das cochonilhas algodão (Hemiptera: Pseudococcidae). Tese de Doutoramento em Engenharia Agrónómica, ISA/UTL, Lisboa, pp 176
- Franco JC, Silva EB & Carvalho JP (2000) Cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae) associadas aos citrinos em Portugal. ISA Press, Lisboa, 142 pp
- Franco JC, Ramos AP & Moreira I (eds) (2006) Infraestruturas ecológicas e protecção biológica – Caso dos citrinos. ISA Press, Lisboa, 142pp
- Franco JC, Suma P, Silva EB, Blumberg D & Mendel Z (2004) Management strategies of mealybug pests of citrus in Mediterranean countries. *Phytoparasitica* 32: 507-522
- Franco JC, Silva EB, Cortegano E, Campos L, Branco M, Zada A & Mendel Z (2008) Kairomonal response of the parasitoid *Anagyrus* sp. nov. near *pseudococci* to the sex pheromone of the vine mealybug. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 126: 122-130
- Gillespie J, Kanost MR & Trenczek T (1997) Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology* 42: 611-643
- Giordanengo P & Nénon JP (1990) Melanization and encapsulation of eggs and larvae of *Epidinocarsis lopezi* by its host *Phenacoccus manihoti*; effects of superparasitism and egg laying patterns. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 56: 155-163
- Godfray HCJ & Hassell MP (1993) Encapsulation and host-parasitoid population biology. In: Toft CA, Aeschlimann A & Bolis L (eds) *Parasite-hosts associations-coexistence or conflict?* Oxford University Press, Oxford, pp 131-147
- Götz P (1986) Encapsulation in arthropods. In: Brehelin, M (ed) *Immunity in invertebrates*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp 44-56
- Green DM, Kraaijeveld AR & Godfray HCJ (2000) Evolutionary interactions between *Drosophila melanogaster* and its parasitoid *Asobara tabida*. *Heredity* 85 (5): 450-458
- Güleç G, Kiliğer AN, Kaydan MB & Ülgentürk S (2007) Some biological interactions between the parasitoid *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) and its host *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: CXoccoidea: Pseudococcidae). *Journal of Pest Science* 80: 43-49
- Guzo D & Stoltz DB (1987) Observations on cellular immunity and parasitism in the tussock moth. *Journal of Insect Physiology* 33: 19-31
- Harvey JA, Thompson DJ & Heyes TJ (1996) Reciprocal influences and costs of parasitism on the development of *Corcyra cephalonica* and its endoparasitoid *Venturia canescens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 81 (1): 39-45
- Hawkins BA (1990) Global patterns of parasitoid assemblage size. *Journal of Animal Ecology* 59: 57-72
- Henter HJ & Via S (1995) The potencial for coevolution in a host-parasitoid system. 1. Genetic variation within an aphid population in susceptibility to a parasitic wasp. *Evolution* 49: 427-438
- Herrera FCJ & Bellotti AC (1986) Development and behaviour of *Epidinocarsis* (*Apoanagyrus*) *diversicornis* Howard (Encyrtidae) natural enemy of *Phenacoccus herreni* Cox & Williams (Pseudococcidae). *Acta Agronomica-Universidad Nacional de Colombia* 36 (4): 47-58

- Hillyer JF & Christensen BM (2002) Characterization of hemocytes from the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Histochemistry and Cell Biology* 117 (5): 431-440
- Hoffman JA (1995) Innate immunity of insects. *Current Opinion in Immunology* 7 (1): 4-10
- Hu J, Yu X, Fu W & Zhang W (2008) A *Helix pomatia* lectin binding protein on the extraembryonic membrane of the polyembryonic wasp *Macrocentrus cingulum* protects embryos from being encapsulated by hemocytes of host *Ostrinia furnacalis*. *Developmental and Comparative Immunology* 32: 356–364
- Hu J, Zhu XX & Fu WJ (2003) Passive evasion of encapsulation in *Macrocentrus cingulum* Brischke (Hymenoptera: Braconidae), a polyembryonic parasitoid of *Ostrinia furnacalis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Insect Physiology* 49 (4): 367-375
- Islam KS & Copland MJW (2000) Influence of egg load and oviposition time interval on the host discrimination and offspring survival of *Anagyrus pseudococchi* (Hymenoptera: Encyrtidae), a solitary endoparasitoid of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Bulletin of Entomological Research* 90 (1): 69-75
- Islam KS & Jahan M (1992) Influence of different types of food on the reproductive performance of *Anagyrus pseudococchi* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Bangladesh Journal of Entomology* 2: 17-22
- Jervis MA & Kidd NA (1986) Host-feeding strategies in hymenopteran parasitoids. *Biological Reviews* 61: 395-434
- Jervis MA & Copland MJW (1996) The life cycle. In: Jervis M & Kidd N (eds) *Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation*. Chapman & Hall, London, pp 63-162
- Johner A & Lanzrein B (2002) Characterization of two genes of the polidnavirus of *Chelonus inanitus* and their stage-specific expression in the host *Spodoptera littoralis*. *Journal of General Virology* 83: 1075-1085
- Johnson JK, Li J & Christensen BM (2001) Cloning and characterization of a dopachrome conversion enzyme from the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 31 (11): 1125-1135
- Johnson JK, Rocheleau TA, Hillyer JF, Chen CC, Li J & Christensen BM (2003) A potential role for phenylalanine hydroxylase in mosquito immune responses. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 33 (3): 345-354
- Kadash K, Harvey JA & Strand MR (2003) Cross-protection experiments with parasitoids in the genus *Microplitis* (Hymenoptera: Braconidae) suggest a high level of specificity in their associated bracoviruses. *Journal of Insect Physiology* 49 (5): 473-482
- Khafagi WE & Hegazi EM (2001) Effects of juvenile hormones and precocenes on the immune response of *Spodoptera littoralis* larvae to supernumerary larvae of the solitary parasitoid, *Microplitis rufiventris* Kok. *Journal of Insect Physiology* 47 (11): 1249-1259
- Kidd NAC & Jervis MA (1991) Host-feeding and oviposition strategies of parasitoids in relation to host stage. *Researches on Population Ecology* 33: 13-28
- King BH (1987) Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *Quarterly Review of Biology* 62: 367-396

- Kitano H, Wago H & Arakawa T (1990) Possible role of teratocytes of the gregarious parasitoid, *Cotesia* (= *Apanteles*) *glomerata* in the suppression of phenoloxidase activity in the larval host, *Pieris rapae crucivora*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 13: 177-185
- Kniskern J & Rausher MD (2001) Two modes of host-enemy coevolution. Population Ecology 43: 3-14
- Koella JC & Boëte C (2002) A genetic correlation between age at pupation and melanization immune response of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. Evolution 56 (5): 1074-1079
- Kraaijeveld AR & van Alphen JJM (1994) Geographical variation in resistance of the parasitoid *Asobara tabida* against encapsulation by *Drosophila melanogaster* larvae: the mechanism explored. Physiological Entomology 19 (1): 9-14
- Kraaijeveld AR & van Alphen JJM (1995) Foraging behavior and encapsulation ability of *Drosophila melanogaster* larvae: correlated polymorphisms? (Diptera: Drosophilidae). Journal of Insect Behavior 8 (3): 305-314
- Kraaijeveld AR & Godfray HCJ (1999) Geographic patterns in the evolution of resistance and virulence in *Drosophila* and its parasitoids. American Naturalist 153 (suppl): 61-74
- Kraaijeveld AR, van Alphen JJM & Godfray HCJ (1998) The coevolution of host resistance and parasitoid virulence. Parasitology 116: S29-S45
- Kraaijeveld AR, Hutcheson KA, Limentani EC & Godfray HCJ (2001) Costs of counter defenses to host resistance in a parasitoid of *Drosophila*. Evolution 55 (9): 1815-1821
- Labrosse C, Carton Y, Dubuffet A, Drezen JM & Poirie M (2003) Active suppression of *D. melanogaster* immune response by long gland products of the parasitic wasp *Leptopilina boulardi*. Journal of Insect Physiology 49 (5): 513-522
- Landis DA & Orr DB (1996) Biological control: approaches and applications. University of Minnesota. Online em <http://ipmworld.umn.edu/chapters/landis.htm> (Consultado em Outubro de 2008)
- Lavine MD & Beckage NE (1995) Polydnnaviruses: potent mediators of host insect immune dysfunction. Parasitology Today 11 (10): 368-378
- Lavine MD & Strand MR (2002) Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Biochemistry and Molecular Biology 32 (10): 1295-1309
- Lee S, Nalini M & Kim Y (2008) A viral lectin encoded in *Cotesia plutellae* bracovirus and its immunosuppressive effect on host hemocytes. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 149: 351-361
- Li J & Christensen BM (1990) Immune competence of *Aedes trivittatus* hemocytes as assessed by lectin binding. Journal of Parasitology 76 (2): 276-278
- Li J, Tracy JW, Christensen BM & Li JY (1992) Phenol oxidase activity in hemolymph compartments of *Aedes aegypti* during melanotic encapsulation reactions against microfilariae. Developmental and Comparative Immunology 16 (1): 41-48
- Lockwood JA (1992) Neoclassical biological control: a double-edged sword. Society for Invertebrate Pathology Newsletter 24: 6-8
- Loret SM & Strand MR (1998) Follow-up of protein release from *Pseudoplusia includens* haemocytes: a first step toward identification of factors mediating encapsulation in insects. European Journal of Cell Biology 76 (2): 146-155

- Lu J-F, Feng C-J, Hu J & Fu W-J (2007) Extraembryonic membrane of the polyembryonic parasitoid *Macrocentrus cingulus* Brucke (Hym., Braconidae) is essential for evasion of encapsulation. *Journal of Applied Entomology* 131: 472-477
- Marti M, Grossniklaus-Bürgin C, Wyder S, Wyler T & Lanzrein B (2003) Ovary development and polydnavirus morphogenesis in the parasitic wasp *Chelonus inanitus*. I. Ovary morphogenesis, amplification of viral DNA and ecdysteroid titres. *Journal of General Virology* 84: 1141-1150
- Mills NJ (1990) Are parasitoids of significance in endemic populations of forest defoliators? Some experimental observations from gypsy moth, *Limantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). In: Watt AD, Leather SR, Hunter M & Kidd NA (eds) *Population dynamics of forest pests*. Intercept, Andover, pp 265-274
- Mills NJ (1994) The structure and complexity of parasitoid communities in relation to biological control. In: Hawkins BA & Sheehan W (eds) *Parasitoid community ecology*. Oxford University Press, Oxford, pp 397-417
- Mills NJ & Nealis VG (1992) European field collections and Canadian releases of *Ceranthia samarensis* (Diptera: Tachinidae); a parasitoid of the gypsy moth. *Entomophaga* 37: 181-191
- Mills NJ & Getz WM (1996) Modelling the biological control of insect pests: a review of host-parasitoid models. *Ecological Modelling* 92: 121-143
- Mochiah MB, Ngi-Song AJ, Overholt WA & Stouthamer R (2002) Variation in encapsulation sensitivity of *Cotesia sesamiae* biotypes to *Busseola fusca*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 105: 111-118
- Monconduit H & Prevost G (1994) Avoidance of encapsulation by *Asobara tabida*, a larval parasitoid of *Drosophila* species. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences SUPP*16: 301-309
- Morales J, Chiub H, Oob T, Plazab R, Hoskinsa S & Govinda S (2005) Biogenesis, structure, and immune-suppressive effects of virus-like particles of a *Drosophila* parasitoid, *Leptopilina victorae*. *Journal of Insect Physiology* 51: 181-195
- Moreau SJM, Eslin P, Giordanengo P & Doury G (2003) Comparative study of the strategies evolved by two parasitoids of the genus *Asobara* to avoid the immune response of the host, *Drosophila melanogaster*. *Developmental and Comparative Immunology* 27 (4): 273-282
- Murdoch WW & Briggs CJ (1996) Theory for biological control: recent developments. *Ecology* 77: 2001-2013
- Nalini M, Choi JY, Je YH, Hwang I & Kim Y (2008) Immuno-evasive property of a polydnaviral product, CpBV-lectin, protects the parasitoid egg from hemocytic encapsulation of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Journal of Insect Physiology* 54(7):1125-31
- Namba O, Nakamatsu Y, Miura K & Tanaka T (2008) *Autographa nigrisigna* looper (Lepidoptera: Noctuidae) excludes parasitoid egg using cuticular encystment induced by parasitoid ovarian fluid. *Applied Entomology and Zoology* 43(3): 359-367
- Nappi AJ & Vass E (1998) Hydrogen peroxide production in immune-reactive *Drosophila melanogaster*. *Journal of Parasitology* 84 (6): 1150-1157

- Nappi AJ, Carton Y & Frey F (1991) Parasite-induced enhancement of hemolymph tyrosinase activity in a selected immune reactive strain of *Drosophila melanogaster*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 18 (3): 159-168
- Nappi AJ, Carton Y, Li J & Vass E (1992) Reduced cellular immune competence of a temperature-sensitive dopa decarboxylase mutant strain of *Drosophila melanogaster* against the parasite *Leptopilina boulardi*. Comparative Biochemistry and Physiology 101 (3): 453-460
- Nénon JP, Guyomard O & Hemon G (1988) Encapsulation of the eggs and larvae of the Hymenoptera Encyrtidae *Epidinocarsis* (= *Apoanagyrus*) *lopezi* by its pseudococcid host *Phenacoccus manihoti*; influence of temperature and superparasitism. Comptes Rendus de l'Academie des Sciences 306 (11): 325-331
- Parkinson N, Richards EH, Conyers C, Smith I & Edwards JP (2002) Analysis of venom constituents from the parasitoid wasp *Pimpla hypochondriaca* and cloning of a cDNA encoding a venom protein. Insect Biochemistry and Molecular Biology 32 (7): 729-735
- Parkinson NM, Conyers CM, Keen JN, MacNicol AD, Smith I & Weaver RJ (2003) cDNAs encoding large venom proteins from the parasitoid wasp *Pimpla hypochondriaca* identified by random sequence analysis. Comparative Biochemistry and Physiology 134 (4): 513-520
- Passarinho AM, Leandro MJ, Oliveira M, Figueiredo E, Franco JC, Neves-Martins J & Mexia A (2006) Avaliação do parasitismo por *Anagyrus pseudococci* (Girault) em cochonilhas-algodão em proteáceas. Boletim Sanidad Vegetal - Plagas 32: 215-221
- Pech LL & Strand MR (2000) Plasmacytes from the moth *Pseudoplusia includens* induce apoptosis of granular cells. Journal of Insect Physiology 46 (12): 1565-1573
- Pedata PA, Garonna AP, Zabatta A, Zeppa P, Romani R & Isidoro N (2003) Development and morphology of teratocytes in *Encarsia berlesei* and *Encarsia citrina*: first record for Chalcidoidea. Journal of Insect Physiology 49: 1063-1071
- Poirie M, Frey F, Hita M, Huguet E, Lemeunier F, Periquet G & Carton Y (2000) *Drosophila* resistance genes to parasitoids: chromosomal location and linkage analysis. Proceedings of the Royal Society of London-Series B-Biological Sciences 267 (1451): 1417-1421
- Prevost G, Davies DH & Vinson SB (1990) Evasion of encapsulation by parasitoid correlated with the extent of host hemocyte pathology. Entomologia Experimentalis et Applicata 55 (1): 1-10
- Price PW (1970) Characteristics permitting coexistence among parasitoids of a sawfly in Quebec. Ecology 51: 445-454
- Price PW (1971) Niche breadth and dominance of parasitic insects sharing the same host species. Ecology 52: 585-596
- Price PW (1986) Ecological aspects of host plant resistance and biological control: Interactions among three trophic levels. In: Boethel DJ & Eikenbary RD (eds) Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects. Ellis Horwood Ltd. Publishers, Chichester, pp 11-30
- Pschorn-Walcher H (1977) Biological control of forest insects. Annual Review of Entomology 22: 1-22
- Qin QL, Wang FH & Gong H (1999) Actions on teratocytes in coordinating the relationship between a parasitoid and its host- an overview. Acta Entomologica Sinica 42 (4): 431-438

- Qin QL, Gong H, Ding CI, Qi YM, Gan YL & Li SW (2001) Property and function of virus-like filaments in calyx region of the endoparasitoid *Microplitis mediator*. *Acta Entomologica Sinica* 44 (2): 170-175
- Ratcliffe N (1993) Cellular defence responses of insects: unresolved problems. In: Beckage N, Thompson SN & Federici BA (eds) *Parasites and pathogens of insects*. Vol. I: Parasites. Academic Press, San Diego, pp 267-304
- Ratcliffe NA & Rowley AF (1987) Insect responses to parasites and other pathogens. In: Soulsby EJJ (ed) *Immune responses in parasitic infections: immunology, immunopathology, and immunoprophylaxis*. Vol. IV: Protozoa, arthropods, and invertebrates. CRC Press Inc, Florida, pp 271-332
- Ratner S & Vinson SB (1983) Encapsulation reactions *in vitro* by haemocytes of *Heliothis virescens*. *Journal of Insect Physiology* 29 (11): 855-863
- Reed DA, Luhning KA, Stafford CA, Hansen AK, Millar JG, Hanks LM & Paine TD (2007) Host defensive response against an egg parasitoid involves cellular encapsulation and melanization. *Biological Control* 41: 214-222
- Renaud F, Clayton D & Meeüs T (1996) Biodiversity and evolution in host-parasite associations. *Biodiversity and Conservation* 5: 963-974
- Rizki RM & Rizki TM (1990) Encapsulation of parasitoid eggs in phenoloxidase-deficient mutants of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology* 36 (7): 523-529
- Rizki TM, Rizki RM & Carton Y (1990) *Leptopilina heterotoma* and *L. boulardi*: strategies to avoid cellular defense responses of *Drosophila melanogaster*. *Experimental Parasitology* 70 (4): 466-475
- Russo J, Brehelin M & Carton Y (2001) Haemocyte changes in resistant and susceptible strains of *D. melanogaster* caused by virulent and avirulent strains of the parasitic wasp *Leptopilina boulardi*. *Journal of Insect Physiology* 47 (2): 167-172
- Russo J, Dupas S, Frey F, Carton Y & Brehelin M (1996) Insect immunity: early events in the encapsulation process of parasitoid (*Leptopilina boulardi*) eggs in resistant and susceptible strains of *Drosophila*. *Parasitology* 112 (1): 135-142
- Sagarra LA & Vincent C (1999) Influence of host stage on oviposition, development, sex ratio, and survival of *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae). *Biological Control* 15 (1): 51-56
- Sagarra LA, Peterkin DD, Vicent C & Stewart RK (2000) Immune response of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae), to oviposition of the parasitoid *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera Encyrtidae). *Journal of Insect Physiology* 46: 647-653
- Salt G (1975) The fate of an internal parasitoid, *Nemeritis canescens*, in a variety of insects. *Transactions of the Royal Entomological Society* 127 (2): 141-161
- Salzet M, Capron A & Stefano GB (2000) Molecular Crosstalk in Host-Parasite Relationships: Schistosome- and Leech-Host Interactions. *Parasitology Today* 16 (12): 536-540

- Schepers EJ, Dahlman DL & Zhang D (1998) *Microplitis croceipes* teratocytes: in vitro culture and biological activity of teratocyte secreted protein. *Journal of Insect Physiology* 44: 767-777
- Schmidt O, Andersson K, Will A & Feddersen IS (1990) Virus like particle proteins from a hymenopteran endoparasitoid are related to a protein component of the immune system in the lepidopteran host. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 13: 107-115
- Schmidt O, Li D, Beck M, Kinuthia W, Bellati J, Roberts HLS (2005) Phenoloxidase-like activities and the function of virus-like particles in ovaries of the parthenogenetic parasitoid *Venturia canescens*. *Journal of Insect Physiology* 51: 117-125
- Shelby KS, Cui L & Webb BA (1998) Polydnavirus-mediated inhibition of lysozyme gene expression and the antibacterial response. *Insect Molecular Biology* 7 (3): 265-272
- Silva EB (2000) Cálculo dos prejuízos provocados por *Planococcus citri* (Risso) em citrinos. Tese Doutor Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa, pp 255
- Siva-Jothy MT (2000) A mechanistic link between parasite resistance and expression of a sexually selected trait in a damselfly. *Proceedings of the Royal Society of London-Series B-Biological Sciences* 267 (1461): 2523-2527
- Siva-Jothy MT, Tsubaki Y & Hooper RE (1998) Decreased immune response as a proximate cost of copulation and oviposition in a damselfly. *Physiological Entomology* 23 (3): 274-277
- Sokal RR & Rohlf FJ (1987) *Introduction to Biostatistics*. 2nd ed. WH Freeman & Co, New York, 368 pp
- Sorrentino RP, Carton Y & Govind S (2002) Cellular immune response to parasite infection in the *Drosophila* lymph gland is developmentally regulated. *Developmental Biology* 243 (1): 65-80
- Souissi R & Le Ru B (1998) Influence of the host plant of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* (Hemiptera: Pseudococcidae) on biological characteristics of its parasitoid *Apoanagyrus lopezi* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Bulletin of Entomological Research* 88 (1): 75-82
- Stanley DW & Miller JS (2006) Eicosanoid actions in insect cellular immune functions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 119: 1-13
- Stettler P, Trenczek T, Wyler T, Pfister-Wilhelm R & Lanzrein B (1998) Overview of parasitism associated effects on host haemocytes in larval parasitoids and comparison with effects of the egg-larval parasitoid *Chelonus inanitus* on its host *Spodoptera littoralis*. *Journal of Insect Physiology* 44 (9): 817-831
- Strand MR & Noda T (1991) Alterations in the haemocytes of *Pseudoplusia includens* after parasitism by *Microplitis demolitor*. *Journal of Insect Physiology* 37 (11): 839-850
- Strand MR & Wong EA (1991) The growth and role of *Microplitis demolitor* teratocytes in parasitism of *Pseudoplusia includens*. *Journal of Insect Physiology* 37 (7): 503-515
- Strand MR & Pech LL (1995) Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annual Review of Entomology* 40: 31-56
- Summers MD & Dib-Hajj SD (1995) Polydnavirus-facilitated endoparasite protection against host immune defences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 29-36
- Suzuki M & Tanaka T (2006) Virus-like particles in venom of *Meteorus pulchricornis* induce host hemocyte apoptosis. *Journal of Insect Physiology* 52: 602-613

- Tagaki M & Hirose Y (1994) Building parasitoid communities: the complementary role of two introduced parasitoid species in a case of successful biological control. In: Hawkins BA & Sheehan W (eds) Parasitoid community ecology. Oxford University Press, Oxford, pp 436-448
- Tanaka T (1987) Morphology and functions of calyx fluid filaments in the reproductive tracts of endoparasitoid, *Microplitis mediator* (Hym.: Braconidae). Entomophaga 32 (1): 9-17
- Tanaka T & Wago H (1990) Ultrastructure and functional maturation of teratocytes of *Apanteles kariyai*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 13: 187-197
- Tena A, Kapranas A, Garcia-Mari F & Luck RF (2008) Host discrimination, superparasitism and infanticide by a gregarious endoparasitoid. Animal Behaviour 76(3): 789-799.
- Triapitsyn SV, González D, Vickerman DB, Noyes JS & White EB (2007) Morphological, biological, and molecular comparisons among the diVerent geographical populations of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of *Planococcus* spp. (Hemiptera: Pseudococcidae), with notes on *Anagyrus dactylopii*. Biological Control 41: 14-24
- Van Alphen JJM & Jervis M (1995) Foraging behaviour. In: Jervis M & Kidd NK (eds) The study of natural enemies. Chapman & Hall, London, pp 1-62
- Webb BA & Luckhart S (1994) Evidence for early immunosuppressive role for related *Campoletis sonorensis* venom and ovarian proteins in *Heliothis virescens*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 26: 147-163
- Webb BA & Luckhart S (1996) Factors mediating short- and long-term immune suppression in a parasitized insect. Journal of Insect Physiology 42 (1): 33-40
- Wiegand C, Levin D, Gillespie JP, Willott E, Kanost MR & Trenczek T (2000) Monoclonal antibody MS13 identifies a plasmatocyte membrane protein and inhibits encapsulation and spreading reactions of *Manduca sexta* hemocytes. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 45 (3): 95-108
- Willott E, Trenczek T, Thrower LW & Kanost MR (1994) Immunochemical identification of insect hemocyte populations: monoclonal antibodies distinguish four major hemocyte types in *Manduca sexta*. European Journal of Cell Biology 65: 417-423
- Wyler T & Lanzrein B (2003) Ovary development and polydnavirus morphogenesis in the parasitic wasp *Chelonus inanitus*. II. Ultrastructural analysis of calyx cell development, virion formation and release. Journal of General Virology 84: 1151-1163
- Yin LH, Wang CZ & Qin JD (2001) Polydnavirus and its functions in parasitoid-host interactions. Acta Entomologica Sinica 44 (1): 109-118
- Yin LH, Zhang C, Qin JD & Wang CZ (2003) Polydnavirus of *Campoletis chloridae*: characterization and temporal effect on host *Helicoverpa armigera* cellular immune response. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 52 (2): 104-113
- Yourth CP, Forbes MR & Smith BP (2001) On understanding variation in immune expression of the damselflies *Lestes* spp.. Canadian Journal of Zoology 79 (5): 815-821
- Yu XQ (2002) Welcome to Yu Lab. Department of Biochemistry, Kansas State University. Online em <http://sgi.bls.umkc.edu/yux/encapsulation.html> (Consultado em Outubro de 2008)

- Yu XQ, Zhu YF, Ma C, Fabrick JA & Kanost MR (2002) Pattern recognition proteins in *Manduca sexta* plasma. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32 (10): 1287-1293
- Zhang D, Dahlman DL & Järlfors UE (1997) Effects of *Microplitis croceipes* teratocytes on host haemolymph protein content and fat body proliferation. *Journal of Insect Physiology* 43: 577-585
- Zheng L, Coluzzi M & Bradley D (1999) Genetic basis of encapsulation response in *Anopheles gambiae*. *Parassitologia Roma* 41: 181-184

ANEXO 1

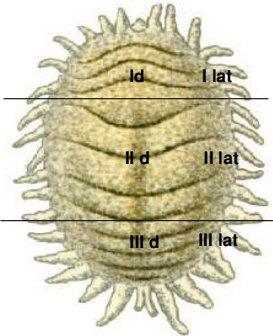
FICHA UTILIZADA PARA ANOTAÇÃO DE DADOS DOS ENSAIOS

ENCAPSULAÇÃO EM COCHONILHAS-ALGODÃO

Espécie de Cochonilha:
Espécie de Parasitóide:

REPETIÇÃO Nº: DATA:

Cochonilha	OVOS		Posturas	Localização dos ovos								
	E	NE		I d	II d	III d	I lat	II lat	III lat	I v	II v	III v
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												
21												
22												
23												
24												
25												
26												
27												
28												
29												
30												
31												
32												
33												
34												
35												
36												
37												
38												
39												
40												
41												
42												
43												
44												
45												
46												
47												
48												
49												
50												
51												
52												
53												
54												
55												
56												
57												
58												
59												
60												
61												
62												
63												
64												
65												
66												
67												
68												
69												
70												
71												
72												
73												
74												
75												
76												
77												
78												
79												
80												



ANEXO 2

DADOS DA ESTATÍSTICA DESCRITIVA DOS ENSAIOS REALIZADOS

Quadro A.2.1 – Estatística descritiva do ensaio de parasitismo: *Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
Encapsulação agregada (EA)	12	20,90	47,57	68,47	57,33	2,15	7,47	55,75
Encapsulação efectiva (EE)	12	18,35	31,65	50,00	38,99	1,95	6,75	45,56
Encapsulação efectiva relativa (REE)	12	22,86	74,36	97,22	88,37	2,15	7,46	55,69
Superparasitismo (SP)	12	0,17	0,19	0,36	0,26	0,02	0,06	0,00
Superparasitismo III (SP III)	12	0,13	0,05	0,18	0,12	0,01	0,046	0,00
Superparasitismo IV (SP IV)	12	0,05	0,01	0,06	0,03	0,01	0,02	0,00
Nº médio de ovos por cochonilha (NMOPC)	12	0,32	1,14	1,46	1,28	0,03	0,11	0,01
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha (NMOEPC)	12	0,41	0,55	0,96	0,74	0,04	0,15	0,02
Nº médio de ovos por cochonilha parasitada (NMOPCP)	12	0,31	1,27	1,59	1,43	0,03	0,12	0,01
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada (NMOEPCP)	12	0,47	0,62	1,09	0,82	0,05	0,17	0,03
Taxa de parasitismo (TP)	12	0,18	0,81	0,99	0,90	0,01	0,04	0,00

Quadro A.2.2 – Estatística descritiva do padrão de oviposição determinado na combinação *Planococcus citri* (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
ovo1	12	15,00	46,00	61,00	53,67	1,40	4,87	23,70
ovo2	12	9,00	6,00	15,00	10,58	0,70	2,43	5,90
ovo3	12	8,00	2,00	10,00	5,92	0,79	2,74	7,54
ovo4	12	3,00	1,00	4,00	1,67	0,31	1,07	1,15
ovo5	12	2,00	0,00	2,00	0,42	0,19	0,67	0,45
ovo6	12	1,00	0,00	1,00	0,08	0,08	0,29	0,08
ovo7	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Quadro A.2.3 – Estatística descritiva do ensaio de parasitismo: *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
Encapsulação agregada (EA)	12	13,54	81,63	95,17	88,21	1,542	5,34	28,55
Encapsulação efectiva (EE)	12	23,47	66,67	90,14	78,33	2,17	7,53	56,75
Encapsulação efectiva relativa (REE)	12	7,99	90,48	98,46	95,15	0,74	2,55	6,51
Superparasitismo (SP)	12	0,37	0,36	0,74	0,50	0,03	0,12	0,01
Superparasitismo III (SP III)	12	0,36	0,10	0,46	0,26	0,03	0,11	0,01
Superparasitismo IV (SP IV)	12	0,29	0,03	0,32	0,18	0,02	0,09	0,01
Nº médio de ovos por cochonilha (NMOPC)	12	1,29	1,20	2,49	1,62	0,11	0,38	0,15
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha (NMOEPC)	12	1,37	0,99	2,36	1,45	0,12	0,42	0,18
Nº médio de ovos por cochonilha parasitada (NMOPCP)	12	1,38	1,55	2,93	1,96	0,11	0,40	0,16
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada (NMOEPCP)	12	1,51	1,27	2,78	1,75	0,13	0,45	0,20
Taxa de parasitismo (TP)	12	0,13	0,76	0,89	0,82	0,01	0,04	0,00

Quadro A.2.4 – Estatística descritiva do padrão de oviposição determinado na combinação *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
ovo1	12	22,00	18,00	40,00	31,33	1,95	6,76	45,70
ovo2	12	10,00	12,00	22,00	16,50	0,81	2,81	7,91
ovo3	12	15,00	4,00	19,00	10,17	1,22	4,24	17,97
ovo4	12	8,00	0,00	8,00	4,33	0,77	2,67	7,15
ovo5	12	8,00	0,00	8,00	2,58	0,73	2,54	6,45
ovo6	12	5,00	0,00	5,00	0,83	0,42	1,47	2,15
ovo7	12	2,00	0,00	2,00	0,42	0,23	0,80	0,63

Quadro A.2.5 – Estatística descritiva do ensaio de parasitismo: *Planococcus ficus* (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
Encapsulação agregada (EA)	12	18,59	40,00	58,59	48,65	2,10	7,28	53,06
Encapsulação efectiva (EE)	12	16,81	17,57	34,38	23,92	1,46	5,07	25,70
Encapsulação efectiva relativa (REE)	12	55,00	40,00	95,00	67,78	5,54	19,20	368,52
Superparasitismo (SP)	12	0,27	0,12	0,39	0,25	0,03	0,09	0,01
Superparasitismo III (SP III)	12	0,26	0,03	0,29	0,14	0,02	0,08	0,01
Superparasitismo IV (SP IV)	12	0,19	0,03	0,22	0,07	0,02	0,076	0,01
Nº médio de ovos por cochonilha (NMOPC)	12	0,81	0,95	1,76	1,32	0,07	0,26	0,07
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha (NMOEPC)	12	0,58	0,42	1,00	0,66	0,06	0,22	0,05
Nº médio de ovos por cochonilha parasitada (NMOPCP)	12	0,78	1,19	1,97	1,52	0,08	0,28	0,08
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada (NMOEPCP)	12	0,63	0,52	1,15	0,76	0,07	0,25	0,06
Taxa de parasitismo (TP)	12	0,15	0,79	0,94	0,87	0,02	0,06	0,00

Quadro A.2.6 – Estatística descritiva do padrão de oviposição determinado na combinação *Planococcus ficus* (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
ovo1	12	21,00	42,00	63,00	53,42	2,00	6,93	48,08
ovo2	12	10,00	3,00	13,00	7,25	0,83	2,86	8,20
ovo3	12	8,00	0,00	8,00	4,50	0,62	2,15	4,64
ovo4	12	6,00	1,00	7,00	3,08	0,53	1,83	3,36
ovo5	12	5,00	0,00	5,00	1,25	0,55	1,91	3,66
ovo6	12	5,00	0,00	5,00	0,67	0,41	1,43	2,06
ovo7	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Quadro A.2.7 – Estatística descritiva do ensaio de parasitismo: *Pseudococcus viburni* (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
Encapsulação agregada (EA)	4	3,95	77,78	81,73	79,58	0,87	1,74	3,04
Encapsulação efectiva (EE)	4	6,92	60,32	67,24	63,76	1,62	3,25	10,59
Encapsulação efectiva relativa (REE)	4	6,44	78,00	84,44	81,73	1,35	2,70	7,28
Superparasitismo (SP)	4	0,05	0,38	0,43	0,41	0,01	0,02	0,00
Superparasitismo III (SP III)	4	0,11	0,18	0,29	0,22	0,02	0,05	0,00
Superparasitismo IV (SP IV)	4	0,06	0,07	0,13	0,11	0,01	0,02	0,00
Nº médio de ovos por cochoilha (NMOPC)	4	0,21	1,30	1,51	1,43	0,05	0,09	0,01
Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha (NMOEPC)	4	0,15	1,06	1,21	1,14	0,03	0,06	0,00
Nº médio de ovos por cochoilha parasitada (NMOPCP)	4	0,14	1,72	1,86	1,77	0,03	0,06	0,00
Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha parasitada (NMOEPCP)	4	0,13	1,34	1,47	1,41	0,03	0,06	0,00
Taxa de parasitismo (TP)	4	0,10	0,48	0,58	0,52	0,02	0,04	0,00

Quadro A.2.8 – Estatística descritiva do padrão de oviposição determinado na combinação *Pseudococcus viburni* (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
ovo1	4	8,00	33,00	41,00	38,25	1,80	3,59	12,92
ovo2	4	10,00	6,00	16,00	12,50	2,25	4,51	20,33
ovo3	4	6,00	4,00	10,00	7,00	1,47	2,94	8,67
ovo4	4	4,00	3,00	7,00	5,00	0,82	1,63	2,67
ovo5	4	1,00	1,00	2,00	1,50	0,29	0,58	0,33
ovo6	4	1,00	0,00	1,00	0,50	0,29	0,58	0,33
ovo7	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Quadro A.2.9 – Estatística descritiva do ensaio de parasitismo: *Paracoccus sp.* e *Delottococcus sp.* x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
Encapsulação agregada (EA)	12	20,18	2,04	22,22	6,56	1,58	5,48	29,99
Encapsulação efectiva (EE)	12	20,18	2,04	22,22	6,56	1,58	5,48	29,99
Encapsulação efectiva relativa (REE)	12	0,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00
Superparasitismo (SP)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Superparasitismo III (SP III)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Superparasitismo IV (SP IV)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Nº médio de ovos por cochonilha (NMOPC)	12	0,27	0,28	0,55	0,39	0,03	0,09	0,01
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha (NMOEPC)	12	0,06	0,01	0,07	0,02	0,005	0,02	0,00
Nº médio de ovos por cochonilha parasitada (NMOPCP)	12	0,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada (NMOEPCP)	12	0,20	0,02	0,22	0,06	0,02	0,05	0,00
Taxa de parasitismo (TP)	12	0,27	0,28	0,55	0,39	0,03	0,09	0,01

Quadro A.2.10 – Estatística descritiva do padrão de oviposição determinado na combinação *Paracoccus sp.* e *Delottococcus sp.* x *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
ovo1	12	24,00	25,00	49,00	35,75	2,32	8,05	64,75
ovo2	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo4	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo5	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo6	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo7	12	00,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Quadro A.2.11 – Estatística descritiva do ensaio de parasitismo: *Paracoccus sp.* e *Delottococcus sp.* x *Leptomastix dactylopii* (Howard)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
Encapsulação agregada (EA)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Encapsulação efectiva (EE)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Encapsulação efectiva relativa (REE)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Superparasitismo (SP)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Superparasitismo III (SP III)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Superparasitismo IV (SP IV)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Nº médio de ovos por cochoilha (NMOPC)	12	0,12	0,34	0,46	0,39	0,01	0,03	0,00
Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha (NMOEPC)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Nº médio de ovos por cochoilha parasitada (NMOPCP)	12	0,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00
Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha parasitada (NMOEPCP)	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Taxa de parasitismo (TP)	12	0,12	0,34	0,46	0,39	0,01	0,03	0,00

Quadro A.2.12 – Estatística descritiva do padrão de oviposição determinado na combinação *Paracoccus sp.* e *Delottococcus sp.* x *Leptomastix dactylopii* (Howard)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
ovo1	12	13,00	28,00	41,00	32,33	1,05	3,65	13,33
ovo2	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo4	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo5	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo6	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ovo7	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Quadro A.2.13 – Estatística descritiva do ensaio de parasitismo: *Planococcus citri* (Risso) x *Leptomastix dactylopii* (Howard)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
Encapsulação agregada (EA)	12	10,28	51,58	61,86	56,77	0,99	3,44	11,87
Encapsulação efectiva (EE)	12	15,72	31,34	47,06	38,80	1,30	4,49	20,15
Encapsulação efectiva relativa (REE)	12	31,34	65,63	96,97	90,00	2,76	9,55	91,16
Superparasitismo (SP)	12	0,17	0,18	0,35	0,25	0,02	0,06	0,00
Superparasitismo III (SP III)	12	0,18	0,07	0,25	0,12	0,01	0,05	0,00
Superparasitismo IV (SP IV)	12	0,08	0,01	0,09	0,04	0,01	0,025	0,00
Nº médio de ovos por cochonilha (NMOPC)	12	0,53	0,95	1,48	1,22	0,04	0,14	0,02
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha (NMOEPC)	12	0,38	0,53	0,91	0,69	0,03	0,11	0,01
Nº médio de ovos por cochonilha parasitada (NMOPCP)	12	0,41	1,29	1,70	1,43	0,04	0,13	0,02
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada (NMOEPCP)	12	0,33	0,70	1,03	0,81	0,03	0,11	0,01
Taxa de parasitismo (TP)	12	0,16	0,73	0,89	0,84	0,02	0,06	0,00

Quadro A.2.14 – Estatística descritiva do padrão de oviposição determinado na combinação *Planococcus citri* (Risso) x *Leptomastix dactylopii* (Howard)

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Variância
ovo1	12	13,00	44,00	57,00	50,08	1,36	4,70	22,08
ovo2	12	8,00	5,00	13,00	8,33	0,74	2,57	6,61
ovo3	12	9,00	2,00	11,00	5,25	0,69	2,38	5,66
ovo4	12	5,00	0,00	5,00	2,17	0,49	1,70	2,88
ovo5	12	2,00	0,00	2,00	0,50	0,19	0,67	0,45
ovo6	12	1,00	0,00	1,00	0,08	0,08	0,29	0,08
ovo7	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00

ANEXO 3

DADOS ESTATÍSTICOS DOS ENSAIOS REALIZADOS

ANÁLISE DE VARIÂNCIA UNIFACTORIAL

Variável fixa: Espécie

Espécie 1:

Planococcus citri (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. próx.
pseudococci (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

Espécie 2:

Pseudococcus calceolariae (Maskell) x *Anagyrus* sp. nov.
 próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

Espécie 3:

Planococcus ficus (Signoret) x *Anagyrus* sp. nov. próx.
pseudococci (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

Variável dependente: Encapsulação Agregada

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: EAtransfang

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	1,411(b)	2	0,706	113,103	0,000	226,207	1,000
Intercept	32,729	1	32,729	5245,306	0,000	5245,306	1,000
Espécie	1,411	2	0,706	113,103	0,000	226,207	1,000
Error	0,206	33	0,006				
Total	34,346	36					
Corrected Total	1,617	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,873 (Adjusted R Squared = ,865)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: EAtransfang

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,3691(*)	0,03225	0,000	-0,4483	-0,2900
		3,00	0,0879(*)	0,03225	0,027	0,0088	0,1670
	2,00	1,00	0,3691(*)	0,03225	0,000	0,2900	0,4483
		3,00	0,4570(*)	0,03225	0,000	0,3779	0,5362
	3,00	1,00	-0,0879(*)	0,03225	0,027	-0,1670	-0,0088
		2,00	-0,4570(*)	0,03225	0,000	-0,5362	-0,3779

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: Encapsulação Efectiva

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: EEtransfAng

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	2,173(b)	2	1,086	188,620	0,000	377,240	1,000
Intercept	20,705	1	20,705	3595,107	0,000	3595,107	1,000
Espécie	2,173	2	1,086	188,620	0,000	377,240	1,000
Error	0,190	33	0,006				
Total	23,067	36					
Corrected Total	2,363	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,920 (Adjusted R Squared = ,915)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: EEtransfAng

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey	1,00	2,00	-0,4192(*)	0,03098	0,000	-0,4952	-0,3432
HSD		3,00	0,1643(*)	0,03098	0,000	0,0883	0,2403
	2,00	1,00	0,4192(*)	0,03098	0,000	0,3432	0,4952
		3,00	0,5835(*)	0,03098	0,000	0,5075	0,6595
	3,00	1,00	-0,1643(*)	0,03098	0,000	-0,2403	-0,0883
		2,00	-0,5835(*)	0,03098	0,000	-0,6595	-0,5075

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: Encapsulação Efectiva Relativa

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: REEtransfAng

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	0,855(b)	2	0,428	19,152	0,000	38,304	1,000
Intercept	51,303	1	51,303	2298,098	0,000	2298,098	1,000
Espécie	0,855	2	0,428	19,152	0,000	38,304	1,000
Error	0,737	33	0,022				
Total	52,895	36					
Corrected Total	1,592	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,537 (Adjusted R Squared = ,509)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: REEtransfAng

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,1171	0,06100	0,149	-0,2668	0,0326
		3,00	0,2523(*)	0,06100	0,001	0,1026	0,4020
	2,00	1,00	0,1171	0,06100	0,149	-0,0326	0,2668
		3,00	0,3694(*)	0,06100	0,000	0,2197	0,5190
	3,00	1,00	-0,2523(*)	0,06100	0,001	-0,4020	-0,1026
		2,00	-0,3694(*)	0,06100	0,000	-0,5190	-0,2197

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: Superparasitismo SP**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: SPtransfAng

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	0,564(b)	2	0,282	28,185	0,000	56,371	1,000
Intercept	13,603	1	13,603	1358,509	0,000	1358,509	1,000
Espécie	0,564	2	0,282	28,185	0,000	56,371	1,000
Error	0,330	33	0,010				
Total	14,498	36					
Corrected Total	0,895	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,631 (Adjusted R Squared = ,608)

Post Hoc Tests**Espécie****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SPtransfAng

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,2548(*)	0,04085	0,000	-0,3550	0,1545
		3,00	0,0206	0,04085	0,870	-0,0797	0,1208
	2,00	1,00	0,2548(*)	0,04085	0,000	0,1545	0,3550
		3,00	0,2753(*)	0,04085	0,000	0,1751	0,3756
	3,00	1,00	-0,0206	0,04085	0,870	-0,1208	0,0797
		2,00	-0,2753(*)	0,04085	0,000	-0,3756	-0,1751

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: Superparasitismo SP III

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: SP3transfAng

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	0,232(b)	2	0,116	9,800	0,000	19,600	0,973
Intercept	6,311	1	6,311	533,394	0,000	533,394	1,000
Espécie	0,232	2	0,116	9,800	0,000	19,600	0,973
Error	0,390	33	0,012				
Total	6,934	36					
Corrected Total	0,622	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,373 (Adjusted R Squared = ,335)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SP3transfAng

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,1831(*)	0,04441	0,001	-0,2920	-0,0741
		3,00	-0,0295	0,04441	0,786	-0,1384	0,0795
	2,00	1,00	0,1831(*)	0,04441	0,001	0,0741	0,2920
		3,00	0,1536(*)	0,04441	0,004	0,0446	0,2626
	3,00	1,00	0,0295	0,04441	0,786	-0,0795	0,1384
		2,00	-0,1536(*)	0,04441	0,004	-0,2626	-0,0446

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: Superparasitismo SP IV

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: SP4transfAng

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	0,143(b)	2	0,072	6,484	0,004	12,969	0,878
Intercept	2,505	1	2,505	226,669	0,000	226,669	1,000
Espécie	0,143	2	0,072	6,484	0,004	12,969	0,878
Error	0,365	33	0,011				
Total	3,013	36					
Corrected Total	0,508	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,282 (Adjusted R Squared = ,239)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SP4transfAng

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,1522(*)	0,04292	0,003	-0,2575	-0,0469
		3,00	-0,0994	0,04292	0,068	-0,2047	0,0060
	2,00	1,00	0,1522(*)	0,04292	0,003	0,0469	0,2575
		3,00	0,0528	0,04292	0,444	-0,0525	0,1582
	3,00	1,00	0,0994	0,04292	0,068	-0,0060	0,2047
		2,00	-0,0528	0,04292	0,444	-0,1582	0,0525

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: Taxa de Parasitismo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: TPtransfAng

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	0,083(b)	2	0,042	6,611	0,004	13,221	0,885
Intercept	51,903	1	51,903	8263,862	0,000	8263,862	1,000
Espécie	0,083	2	0,042	6,611	0,004	13,221	0,885
Error	0,207	33	0,006				
Total	52,193	36					
Corrected Total	0,290	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,286 (Adjusted R Squared = ,243)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: TPtransfAng

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	0,1172(*)	0,03235	0,003	0,0378	0,1965
		3,00	0,0493	0,03235	0,293	-0,0301	0,1287
	2,00	1,00	-0,1172(*)	0,03235	0,003	-0,1965	-0,0378
		3,00	-0,0679	0,03235	0,106	-0,1473	0,0115
	3,00	1,00	-0,0493	0,03235	0,293	-0,1287	0,0301
		2,00	0,0679	0,03235	0,106	-0,0115	0,1473

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: Nº médio de ovos por cochoilha

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: NMOPCtranfLn

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	0,197(b)	2	0,098	5,580	0,008	11,159	0,822
Intercept	14,554	1	14,554	825,740	0,000	825,740	1,000
Espécie	0,197	2	0,098	5,580	0,008	11,159	0,822
Error	0,582	33	0,018				
Total	15,332	36					
Corrected Total	0,778	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,253 (Adjusted R Squared = ,207)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: NMOPCtranfLn

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,1643(*)	0,05420	0,013	-0,2972	-0,0313
		3,00	-0,0162	0,05420	0,952	-0,1492	0,1168
	2,00	1,00	0,1643(*)	0,05420	0,013	0,0313	0,2972
		3,00	0,1481(*)	0,05420	0,026	0,0151	0,2811
	3,00	1,00	0,0162	0,05420	0,952	-0,1168	0,1492
		2,00	-0,1481(*)	0,05420	0,026	-0,2811	-0,0151

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: N° médio de ovos encapsulados por cochonilha

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: NMOEPCtranfLn

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	1,862(b)	2	0,931	30,741	0,000	61,482	1,000
Intercept	3,896	1	3,896	128,683	0,000	128,683	1,000
Espécie	1,862	2	0,931	30,741	0,000	61,482	1,000
Error	0,999	33	0,030				
Total	6,757	36					
Corrected Total	2,861	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,651 (Adjusted R Squared = ,630)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: NMOEPCtranfLn

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,4390(*)	0,07104	0,000	-0,6133	-0,2647
		3,00	0,0774	0,07104	0,527	-0,0969	0,2517
	2,00	1,00	0,4390(*)	0,07104	0,000	0,2647	0,6133
		3,00	0,5164(*)	0,07104	0,000	0,3421	0,6907
	3,00	1,00	-0,0774	0,07104	0,527	-0,2517	0,0969
		2,00	-0,5164(*)	0,07104	0,000	-0,6907	-0,3421

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: Nº médio de ovos por cochoilha parasitada

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: NMOPCPtranfLn

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	0,383(b)	2	0,192	12,771	0,000	25,543	0,994
Intercept	20,117	1	20,117	1341,061	0,000	1341,061	1,000
Espécie	0,383	2	0,192	12,771	0,000	25,543	0,994
Error	0,495	33	0,015				
Total	20,996	36					
Corrected Total	0,878	35					

a. Computed using alpha = ,05

b. R Squared = ,436 (Adjusted R Squared = ,402)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: NMOPCPtranfLn

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,2372(*)	0,05000	0,000	-0,3599	-0,1145
		3,00	-0,0430	0,05000	0,668	-0,1657	0,0797
	2,00	1,00	0,2372(*)	0,05000	0,000	0,1145	0,3599
		3,00	0,1941(*)	0,05000	0,001	0,0714	0,3168
	3,00	1,00	0,0430	0,05000	0,668	-0,0797	0,1657
		2,00	-0,1941(*)	0,05000	0,001	-0,3168	-0,0714

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Variável dependente: N^o médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: NMOEPCPtranfLn

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Corrected Model	2,442(b)	2	1,221	41,011	0,000	82,023	1,000
Intercept	6,561	1	6,561	220,325	0,000	220,325	1,000
Espécie	2,442	2	1,221	41,011	0,000	82,023	1,000
Error	0,983	33	0,030				
Total	9,986	36					
Corrected Total	3,425	35					

a Computed using alpha = ,05

b R Squared = ,713 (Adjusted R Squared = ,696)

Post Hoc Tests

Espécie

Multiple Comparisons

Dependent Variable: NMOEPCPtranfLn

	(I) Espécie	(J) Espécie	Mean		Sig.	95% Confidence Interval	
			Difference (I-J)	Std. Error			
			Lower Bound	Upper Bound		Upper Bound	Lower Bound
Tukey HSD	1,00	2,00	-0,5196(*)	0,07045	0,000	-0,6925	-0,3468
		3,00	0,0608	0,07045	0,667	-0,1121	0,2337
	2,00	1,00	0,5196(*)	0,07045	0,000	0,3468	0,6925
		3,00	0,5804(*)	0,07045	0,000	0,4076	0,7533
	3,00	1,00	-0,0608	0,07045	0,667	-0,2337	0,1121
		2,00	-0,5804(*)	0,07045	0,000	-0,7533	-0,4076

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS - TESTE T DE STUDENT

Variável fixa: Espécie

Espécie 1:

Planococcus citri (Risso) x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapitsyn et al. 2007)

Espécie 2:

Planococcus citri (Risso) x *Leptomastix dactylopii* Howard

Variável dependente: Encapsulação Agregada

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
EA	Equal variances assumed	13,528	0,001	0,234	22	0,817	0,55459	2,37374	-4,36824	5,47742
	Equal variances not assumed			0,234	15,480	0,818	0,55459	2,37374	-4,49127	5,60045

Variável dependente: Encapsulação Efectiva

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
EE	Equal variances assumed	4,566	0,044	0,079	22	0,938	0,18438	2,34003	-4,66853	5,03730
	Equal variances not assumed			0,079	19,138	0,938	0,18438	2,34003	-4,71095	5,07972

Variável dependente: Encapsulação Efectiva Relativa

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
REE	Equal variances assumed	0,189	0,668	-0,466	22	0,646	-1,63147	3,49830	-8,88649	5,62355
	Equal variances not assumed			-0,466	20,787	0,646	-1,63147	3,49830	-8,91111	5,64817

Variável dependente: Superparasitismo SP

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
SP	Equal variances assumed	0,099	0,756	0,625	22	0,539	0,01493	0,02390	-0,03464	0,06450
	Equal variances not assumed			0,625	21,998	0,539	0,01493	0,02390	-0,03464	0,06450

Variável dependente: Superparasitismo SP III

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
SP3	Equal variances assumed	0,041	0,841	-0,126	22	0,901	-0,00250	0,01983	-0,04362	0,03862
	Equal variances not assumed			-0,126	21,732	0,901	-0,00250	0,01983	-0,04365	0,03865

Variável dependente: Superparasitismo SP IV

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
SP4	Equal variances assumed	0,350	0,560	-0,776	22	0,446	-0,00675	0,00870	-0,02480	0,01130
	Equal variances not assumed			-0,776	19,741	0,447	-0,00675	0,00870	-0,02492	0,01142

Variável dependente: Nº médio de ovos por cochoilha

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Nº médio de ovos por cochoilha	Equal variances assumed	0,098	0,758	1,181	22	0,250	0,06042	0,05115	-0,04566	0,16649
	Equal variances not assumed			1,181	20,433	0,251	0,06042	0,05115	-0,04613	0,16697

Variável dependente: Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha	Equal variances assumed	3,659	0,069	0,853	22	0,403	0,04458	0,05226	-0,06379	0,15296
	Equal variances not assumed			0,853	20,143	0,404	0,04458	0,05226	-0,06437	0,15354

Variável dependente: Nº médio de ovos por cochonilha parasitada

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Nº médio de ovos por cochonilha parasitada	Equal variances assumed	0,162	0,691	0,000	22	1,000	0,00000	0,04990	-0,10349	0,10349
	Equal variances not assumed			0,000	21,780	1,000	0,00000	0,04990	-0,10355	0,10355

Variável dependente: Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Nº médio de ovos encapsulados por cochonilha parasitada	Equal variances assumed	5,527	0,028	0,243	22	0,810	0,01427	0,05864	-0,10735	0,13589
	Equal variances not assumed			0,243	19,052	0,810	0,01427	0,05864	-0,10845	0,13699

Variável dependente: Taxa de Parasitismo

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Taxa de parasitismo	Equal variances assumed	0,801	0,380	2,570	22	0,017	0,05479	0,02132	0,01058	0,09901
	Equal variances not assumed			2,570	20,438	0,018	0,05479	0,02132	0,01038	0,09920

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS - TESTE T DE STUDENT

Variável fixa: Espécie

Espécie 1:

Paracoccus sp. e *Delottococcus* sp. x *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (sensu Triapitsyn et al. 2007)

Espécie 2:

Paracoccus sp. e *Delottococcus* sp. x *Leptomastix dactylopii* Howard

Variável dependente: Encapsulação Agregada

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
EA	Equal variances assumed	7,730	0,01	4,151	22	0	6,56248	1,58094	3,28381	9,84115
	Equal variances not assumed			4,151	11,000	0	6,56248	1,58094	3,08286	10,04

Variável dependente: Encapsulação Efectiva Relativa

Warnings

The Independent Samples table is not produced.

Group Statistics						
Espécie	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean		
REE	1	12	100,0000	0,00000(a)	0,00000	
	2	12	0,0000	0,00000(a)	0,00000	

a t cannot be computed because the standard deviations of both groups are 0.

Variável dependente: Nº médio de ovos por cochoilha

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Nº médio de ovos por cochoilha	Equal variances assumed	13,817	0,001	0,150	22	0,882	0,00417	0,02770	-0,05328	0,06161
	Equal variances not assumed			0,150	14,303	0,883	0,00417	0,02770	-0,05512	0,06345

Variável dependente: Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha	Equal variances assumed	13,963	0,001	5,100	22	0,000	0,02393	0,00469	0,01420	0,03367
	Equal variances not assumed			5,100	11,000	0,000	0,02393	0,00469	0,01360	0,03426

Variável dependente: Nº médio de ovos por cochoilha parasitada

Warnings

The Independent Samples table is not produced.

Group Statistics

Espécie	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Nº médio de ovos por cochoilha parasitada	1	12	1,0000	0,00000(a)
	2	12	1,0000	0,00000(a)

a t cannot be computed because the standard deviations of both groups are 0.

Variável dependente: Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha parasitada

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Nº médio de ovos encapsulados por cochoilha parasitada	Equal variances assumed	7,730	0,011	4,151	22	0,000	0,06562	0,01581	0,03284	0,09841
	Equal variances not assumed			4,151	11,000	0,002	0,06562	0,01581	0,03083	0,10042

Variável dependente: Taxa de Parasitismo

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Taxa de parasitismo	Equal variances assumed	13,816	0,001	0,151	22	0,882	0,00418	0,02769	-0,05326	0,06161
	Equal variances not assumed			0,151	14,304	0,882	0,00418	0,02769	-0,05511	0,06346